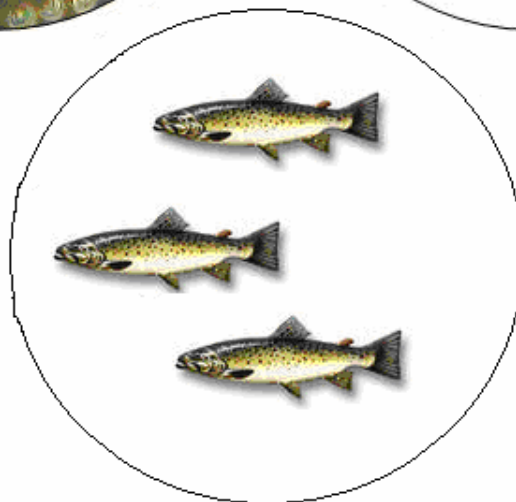
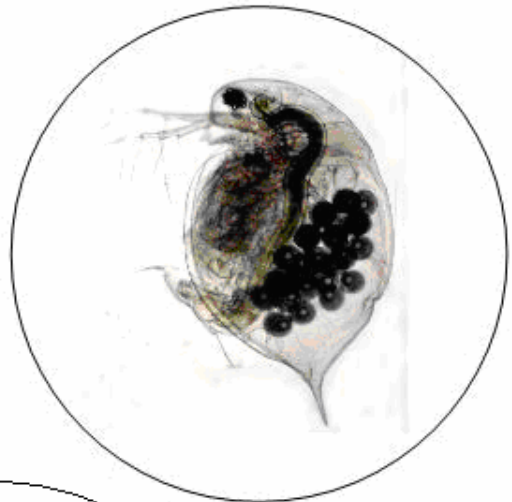
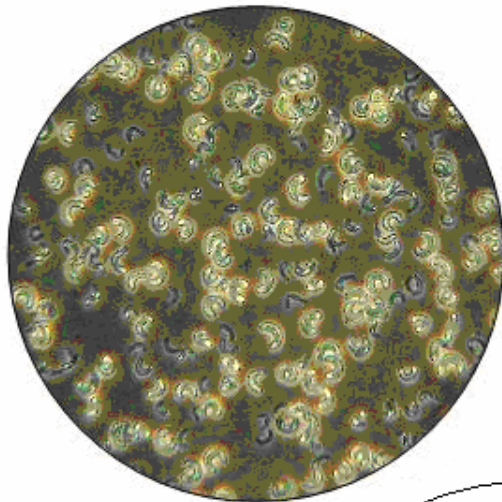




RAPPORT LNR 5826-2009

Økotoksikologisk  
karakterisering av  
avløpsvann fra  
Borregaard Industries  
Limited, Sarpsborg i  
2009



**Hovedkontor**

Gaustadalléen 21  
0349 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00  
Internett: www.niva.no

**Sørlandsavdelingen**

Televeien 3  
4879 Grimstad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 37 04 45 13

**Østlandsavdelingen**

Sandvikaveien 41  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 62 57 66 53

**Vestlandsavdelingen**

Nordnesboder 5  
Postboks 2026  
5817 Bergen  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 55 23 24 95

**NIVA Midt-Norge**

Pirsenteret, Havnegata 9  
Postboks 1266  
7462 Trondheim  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Borregaard Industries Limited, Sarpsborg i 2009	Løpenr. (for bestilling) 5826	Dato 9 juni 2009
	Prosjektnr. Undernr. 28435	Sider Pris 65
Forfatter(e)  August Tobiesen	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Østfold	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Borregaard Industries Limited	Oppdragsreferanse Kenneth Arnesen
---	--------------------------------------

**Sammendrag**

5 ulike avløpsvann fra Borregaards Industries Limited fabrikker i Sarpsborg ble undersøkt i mai/april 2009. Undersøkelsen omfattet toksisitetstester med alger, krepsdyr og fisk. Giftigheten var moderat i pH-justerte prøver. Risikoen for effekter av utslippet i resipienten (Glomma) er vurdert på grunnlag av observerte effekter i toksisitetstestene og fortynningskapasiteten i elven. Risikoen for toksiske effekter på vannlevende organismer utenfor den umiddelbare blandsonen i resipienten vurderes som tilstede ved lav vannføring i Glomma, men lav ved høyere vannføring.

Fire norske emneord 1. Industriavløpsvann 2. Treforedling 3. Toksisitet 4.	Fire engelske emneord 1. Industrial wastewater 2. Pulp and paper industry 3. Toxicity 4.
--	--



August Tobiesen  
Prosjektleder



Kevin Thomas  
Forskningsleder



Merete Ulstein  
Forskningsjef

**Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra  
Borregaard Industries Limited, Sarpsborg i 2009**

## Forord

Borregaard Industries Limited henvendte seg til NIVA i oktober 2008 for å få gjennomført en karakterisering av 5 ulike avløpsvann. Undersøkelsen skulle utføres etter samme program som ved karakterisering av andre avløpsstrømmer fra fabrikken i 2003.

Prøver av avløpsvann ble tatt i april/mai 2009. Økotoksikologiske tester ble utført ved NIVAs økotoksikologiske laboratorium av Nassir ElShaik, Joackim Johannsen og Harald Heiås.

Oslo, 9.05.2009

*August Tobiesen*

---

**Innholdsfortegnelse** (dobbelklikk)

## Sammendrag

Avløpsvann fra 5 ulike prosesser ved Borregaards Industries Limited fabrikker i Sarpsborg ble undersøkt i april/mai 2009. Undersøkelsen omfattet toksisitetstester med alger, krepsdyr og fisk etter samme program som ble benyttet ved tidligere undersøkelser av andre avløpsstrømmer fra fabrikkene i 2003.

Av de 5 ulike avløpene var "Grønnlut fra biokjel" og avløpet fra "Pharma" de mest giftige. Ved vurdering av hvilket avløpsvann som bidrar mest til det totale utslippet så bidro avløpene fra "Blekeri + Tørkemaskin" mest til giftigheten. Dette avløpet var mer giftig ved bruk av acetat enn ved bruk av derivat. For "Blekeri + Tørkemaskin (acetat)" ble det på grunnlag av oppgitt avløpsmengde og målt toksisitet estimert en teoretisk miljørisiko (risiko>1). Denne er vurdert ut fra en "værest tenkelig situasjon" med en miniumsføring i Glomma på 300 m<sup>3</sup>/s.

Risikoen for effekter av utslippet i resipienten (Glomma) er vurdert på grunnlag av observerte effekter i toksisitetstestene og fortynningskapasiteten i elven. Risikoen for toksiske effekter på vannlevende organismer utenfor den umiddelbare blandsonen i resipienten vurderes som tilstede ved miniumums vannføring lik 300 m<sup>3</sup>/s i Glomma men som ubetydelig ved en midelere vannføring på 700 m<sup>3</sup>/s.

## Summary

Title: Ecotoxicological characterization of wastewater from Borregaard Industries Limited, Sarpsborg.

Year: 2009

Author: August Tobiesen

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN

Wastewater from 5 different processes at Borregaard Industries Limited in Sarpsborg, S-E Norway was investigated in April/May 2009. The investigation included short-term toxicity tests with algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*), crustacean (*Daphnia magna*) and fish (*salmo trutta* and *Scophthalmus maximus*) according to the same program as was used in a similar study in 2003.

Of the 5 wastewater samples, the samples from "Grønnlut fra biokjel" and "Pharma" were the most toxic. However, the major contributor to the overall toxicity of the waste water load to Glomma is "Blekeri + Tørkemaskin". Two versions of this wastewater were received; one where acetate had been used and one where a derivate had been used. When acetate was used, this gave the most toxic wastewater stream. Based on submitted data for the flow of waste water and measured toxicity in this study a theoretical environmental risk is estimated (risk >1). This evaluation assumes a worst case situation with minimum water flow of 300 m<sup>3</sup>/s in the River Glomma.

The risk of effects in the receiving water (River Glomma) due to the discharge of the wastewater was assessed on the basis of the results of the toxicity tests and the dilution capacity in the recipient. It was concluded that there is a risk of toxic effects to aquatic organisms when assuming a minimum water flow of 300 m<sup>3</sup>/s. However this becomes insignificant beyond the immediate mixing zone in the recipient when assuming a median water flow of 700 m<sup>3</sup>/s.

# 1. Bakgrunn

Fabrikker i Sarpsborg har et renseanlegg som behandler deler av avløpsvannet fra anlegget før utslipp til Glomma nedstrøms Sarpsfossen. I 2003 og 2007 ble det gjennomført en økotoksikologisk undersøkelse av innløp og utløp fra renseanlegget (Berge et al. 2003 og Källqvist & Romstad 2008). Noen avløpsstrømmer fra fabrikkområdet går imidlertid utenom renseanlegget direkte til Glomma. Prøver av fem slike direkte utslipp ble karakterisert i 2005. (Källqvist et al. 2005). Denne rapport beskriver en tilsvarende undersøkelse av utslipp til Glomma fra 5 ulike prosesser ved Borregaard Fabrikker i Sarpsborg.

## 2. Målsetning

Målsettingen for undersøkelsen var:

- Avklare eventuell giftighet av utslippene slik at risiko for effekter i Glomma kan vurderes

## 3. Metodikk

### 3.1 Prøvetaking

Uttak av prøver av de ulike avløpene ble foretatt av Borregaard. Prøvene ble tatt som øyeblikksprøver. Vannføringen i avløpsstrømmene ble registrert i prøvetakingsperioden og er sammenstilt i tabell 1 sammen med vannføring i Glomma.

Avløpsvann	Prøve dato	Test ID	Volum Avløp (m <sup>3</sup> /time)	Vannføring Glomma (m <sup>3</sup> /s)
Ut anaerob trinn 1	17.4.09	B638/2	260	975
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat)	17.4.09	B638/3	1260	975
Grønnlut fra biokjel	17.4.09	B638/1	40	975
Fra Blekeri + Tørkemaskin (derivat)	11.5.09	B640/2	1000	1348
Fra Pharma	15.5.09	B640/1	25	1096

### 3.2 Økotoksikologisk karakterisering av utslippene

Prøver av de ulike utslippene er undersøkt for gifteffekter på organismegruppene alger, krepsdyr og fisk. Testene er utført primært på ferskvannsorganismer i henhold til internasjonale standardmetoder (ISO), men for ”Grønnlut fra biokjel” og ”Pharma” ble ørret erstattet med piggvar fordi saltholdigheten i prøvene var svært høy.



Undersøkelse av veksthemming av alger ble gjort i henhold til ISO 8692 med grønnalgen *Pseudokirchneriella subcapitata* (tidligere benevnt *Selenastrum capricornutum*) Ved testen eksponeres alger i en konsentrasjonsserie av avløpsvannet, fortynnet i et definert vekstmedium. Algenes vekst registreres ved telling hvert døgn i 72 timer. Veksthastigheten beregnes fra økningen i celletetthet i kulturene. Fra resultatene kan veksthemmingen som funksjon av konsentrasjon av avløpsvann beskrives og EC<sub>50</sub>-verdien, d.v.s. den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastigheten i forhold til kontrollkulturer beregnes.

Akutt toksisitet på krepsdyr ble undersøkt i henhold til ISO 6341 med vannloppen *Daphnia magna* som testorganisme. Antallet overlevende og døde (immobiliserte) forsøksdyr registreres i løpet av 48 timers eksponering i en konsentrasjonsserie av avløpsvannet. Fra responskurven som viser prosent mobile forsøksdyr som funksjon av konsentrasjon av avløpsvann kan EC<sub>50</sub> for immobilisering av *D. magna* beregnes.

Akutt toksisitet på fisk ble undersøkt i henhold til OECD 203 med ørret (*Salmo trutta*) eller piggvar (*Scophthalmus maximus*). Dersom dødelighet blir registrert kan LC50-verdien, d.v.s. den konsentrasjon av avløpsvann som dreper 50 % etter 96 timers eksponering beregnes. Dødelighet blir observert hver dag og temperatur, pH og oksygenmetning blir overvåket daglig. Fisk blir ikke foret i under akutt toksisitets forsøk. Piggvar er en flyndrefisk og det er mulig at testvann med mye bunnfall slår negativt ut for denne relativt til en test med pelagisk fisk.

Alle avløpsvannene hadde en pH-verdi som var utenfor det optimale for mange vannlevende organismer. For å unngå at resultatene av giftighetstestene ble dominert av pH-effekter ble pH i avløpsvannene justert til 7-8, som det optimale området for testorganismene.

## 4. Resultat

### 4.1 Kjemisk og fysisk karakterisering

Det ble ikke utført noen kjemiske analyser av avløpsvannet av NIVA. Tabell 2 gir noen måleverdier for pH og saltholdighet i testvannet som det er nødvendig å kontrollere i ulike testene. Kobbernivåene er data fra Borregaards egen overvåking.

**Tabell 2. pH og saltholdighet i motatte testløsninger.**

Prøve	Test ID	pH	Saltholdighet PSU	Kobber mg/l
Ut anaerob trinn 1	B638/2	8	Ikke målt	0.09
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat)	B638/3	2	3,7	0.025
Grønnlut fra biokjel	B638/1	14	60	3.1
Fra Blekeri + Tørkemaskin (derivat)	B640/2	4	Ikke målt	0.025
Fra Pharma	B640/1	12	30	<0.02

## 4.2 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er rapportert i vedlegg 1 (alger), vedlegg 2 (*Daphnia*) og vedlegg 3 (Fisk). Beregnede effektkonsentrasjoner er sammenstilt i tabell 3.

**Tabell 3. Effektkonsentrasjoner av avløpsvannprøver fra TM+blekeri på alger, *Daphnia* og fisk.**

Prøve	<i>P. subcapitata</i>		<i>D.magna</i>		Fisk	
	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub>	NOEC
Ut anaerob trinn 1	7.0	8.8	22	43	24	18
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat)	0.27	2.1	9	19	42	18
Grønnlut fra biokjel	2.1	2.7	Ca 0.15*	1.04	5.6	-
Fra Blekeri + Tørkemaskin (derivat)	4.8	18.6	Ca 3.2*	5.6	5.7	3.2
Fra Pharma	5.9	29.0	-	<1*	>56	>56

\*stipulert, benyttet test konsentrasjoner tillot ikke nøyaktig beregning

Alle avløpene, unntatt anaerob trinn 1, hadde pH verdier som krevde justering av pH slik at prøvens pH-verdi ikke ga utslag i testene. Avløpsvannet fra "Blekeri + Tørkemaskin (acetat)" var mest giftig for algen *Pseudokirchneriella subcapitata*. Mens avløpsvannet "Grønnlut fra biokjel" og "Pharma" var mest giftig for *Daphnia magna*. Begge disse avløpene hadde meget høy pH i utgangspunktet og ga betydelig mengde partikler og høy saltholdighet ved justering av pH til test betingelser. Det er derfor mulig at dette har bidratt til den observerte immobiliseringen av *Daphnia*.

Fisketestene ble planlagt utført med ørret. Det viste seg at avløpsvann med meget høy pH etter justering ned til pH 7-8, fikk en saltholdighet på 30-60 PSU. Ettersom NIVA hadde juvenil piggvar tilgjengelig ble denne benyttet i testene med "Grønnlut fra biokjel" og "Pharma". Den observerte giftigheten for algen *Pseudokirchneriella subcapitata* i testen med avløpsvann fra "Pharma" er trolig en effekt av saltholdighet. Derimot er effekten på *Daphnia* av "Pharma" vannet ikke en salt effekt til det er effektkonsentrasjonen for lav.

## 5. Diskusjon

Da det ikke er utført noen analyser av metaller eller andre kjemiske parametre i denne omgang for avløpsvannet er det ikke mulig å relatere den påviste giftighet til noen bestemt agens. Borregaard utfører selv overvåking av kobber i avløpsvannet og aktuelle nivåer er gjengitt i Tabell 2. For vekst av *Pseudokirchneriella subcapitata* har kobber en NOEC (=EC<sub>10</sub>) = 43 µg/l (EU RAR). For de fleste avløpene ligger kobbernivået rundt dette eller lavere. For "Grønnlut fra biokjel" så er kobber nivået 3 mg/l. Det burde tilsi at i algetesten med "Grønnlut fra biokjel" så skulle man fått en EC<sub>10</sub> på 1,4 %. I

testen ble EC10 beregnet til 2 % som er meget nær den forventede EC10 basert på kobberinnholdet. Det er derfor grunn til å tro at den observerte effekten på alger skyldes kobberkonsentrasjonen i avløpsvannet. Også Daphnia er sensitiv til kobber med NOEC=10 µg/l i reproduksjons tester (Crommentuijn et al. 1997) men har ikke relevante akutt test data. Tilsvarende for ørret er EC=22 µg/l for kronisk effekt på yngel (Crommentuijn et al. 1997), men mangler data for akutt dødelighet på piggvar.

Avløpsvannets potensial for å gi gifteffekter i en resipient er avhengig av giftigheten og utslippsmengden. Dette kan uttrykkes i form av "Toxicity Emission Factor", TEF. Ved beregning av TEF konverteres først EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdien fra toksisitetstester til "Toxic Units", TU slik at man får en parameter som er proporsjonal mot toksisiteten:

$$TU = \frac{100}{L(E)C_{50}};$$

hvor L(E)C<sub>50</sub> er den laveste EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdien angitt som volum % avløpsvann.

Deretter multipliseres TU med vannføringen i avløpsstrømmen.

$$TEF = TU \times Q;$$

Hvor Q er vannføringen (m<sup>3</sup>/d) (Se tabell 1).

De beregnede TEF-verdiene for de undersøkte avløpsvannene er vist i tabell 4.

**Tabell. 4. Samlet potensiell toksisitet uttrykket som "Toxicity Emission Factor" (TEF) for avløpsvannsprøvene fra TM+blekeri.**

Avløpsvann	Laveste L(E)C <sub>50</sub> (%)	Organisme	TU	TEF	TEF %
Ut anaerob trinn 1	8.8	alger	11.4	70909	4.3
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acet)	2.1	alger	47.6	1440000	89.6
Grønnlut fra biokjel	1.04	Daphnia	96.2	92308	5.6
Fra Blekeri + Tørkemaskin (deriv)	5.6	Daphnia	17.9	428571	25.8
Fra Pharma	1	Daphnia	100	60000	3.6
Sum (alle untatt Blekeri +TM derivat)				1663217	125.8

Beregning av TEF er egnet for sammenlikning av ulike utslipp (f. eks. innenfor en bransje) men gir ikke uttrykk for den faktiske risikoen for at utslippet gir toksiske effekter i den aktuelle resipienten. Det man straks ser av siste kolonne i Tabell 4 er at det er utslippet fra Blekeri (acetat) som utgjør hovedandelen av det giftige utslippet. Utslippene fra Borregaard i Sarpsborg går til Glomma, som har en middelvannføring på ca. 700 m<sup>3</sup>/s og en minstevannføring på ca. 300 m<sup>3</sup>/s. Dette gir en meget høy fortynningseffekt på utslippene i resipienten. For eksempel vil fortynningsgraden for de ulike utslipp når det er utblandet i hele elveprofilen være i området 800-43000 ganger ved minstevannføring i Glomma. I tabell 5 er fortynningsbehovet for å unngå mer enn 10 % effekt på den mest følsomme av de undersøkte organismene (dvs. fortynningen som tilsvarer EC<sub>10</sub>) sammenliknet med

fortynningspotensialet for de ulike avløpsstrømmene ved full utblanding i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s) fremstilt.

**Tabell 5. Fortynningsbehov for å redusere målt toksisk effekt for mest følsomme organisme til 10 % sammenliknet med den reelle fortynningen av avløpsvannene når de er fullt utblandet i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s)**

Avløp	Laveste L(E)C <sub>10</sub> (%)	Organisme	Fortynningsbehov ved L(E)C <sub>10</sub>	Fortynning ved lav vannføring
Ut anaerob trinn 1	7	Alger	14	4154
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acet)	0.27	Alger	370	857
Grønnlut fra biokjel	0.15	Daphnia	667	27000
Fra Blekeri + Tørkemaskin (deriv)	3.2	Daphnia /fisk	31	1080
Fra Pharma	0.2*	Daphnia	500	43200

\*antatt som 1/5 av EC50

Det fremgår av tabell 5 at den reelle fortynningen (når avløpsstrømmene er helt utblandet i Glomma) er fra ca. 2 til ca. 300 ganger høyere enn behovet for å unngå mer enn 10 % veksthemming av alger eller dødelighet hos *Daphnia*. På grunn av at andre arter enn de som er testet kan være mer følsomme og at effekter ved langtidseksponering (kronisk toksisitet) kan oppstå ved lavere konsentrasjoner enn de som gir akutt toksisitet må man regne med at fortynningsbehovet for unngå alle typer av effekter i resipienten er noe høyere enn hva som er angitt i tabell 5. I følge veileder for Økotoksikologisk undersøkelse av industriavløp (SFT 2000) kan fortynningsbehovet for å unngå langtidseffekter (kroniske gifteffekter) av avløpsvann beregnes ut fra resultat av toksisitetstester ved hjelp av applikasjonsfaktorer. Når det fins data for akutt toksisitet for minst tre organismegrupper (alger, krepsdyr og fisk) antas det ikke være fare for kroniske gifteffekter ved konsentrasjoner av avløpsvann 20 ganger lavere enn laveste EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdi. I tabell 6 er fortynningsbehovet for å unngå kroniske effekter ved langtidseksponering i resipienten beregnet for de 5 avløpsvannene. I tabellen (siste kolonne) er det også beregnet ratio fortynningsbehov delt på faktisk fortynning ved minimum vannføring i Glomma. I tabell 7 er beregningene gjentatt for midlere vannføring på 700 m<sup>3</sup>/s.

Beregningene viser at untatt for "Blekeri (acetat)" så ligger fortynningbehovet under det som er tilgjengelig selv ved minstevannføring. For "Blekeri (acetat)" så får man en beregnet risiko lik 1.1 (eller 1.2 om man summerer alle bidrag) ved minstevannføring. Dette er >1 og det er derfor grunnlag for å iverksette tiltak for å redusere risikoen til under 1. Et slik tiltak kan være at man ikke slipper ut denne type avløp i perioder med miniumsvannføring.

Til sammenligning er data for utslippet fra hovedrenseanlegget (fra Berge et al. 2003) og fra undersøkelsen av ulike prosessavløp i 2005 (Källqvist et al. 2005) og Blekeriet i 2007 (Källqvist & Romstad 2008). Generelt ser man at de testede avløpsvannprøver i denne undersøkelsen har en betydelig høyere giftighet enn tilsvarende tester utført tidligere for Borregaard. Spesielt gjelder dette for avløp fra Blekeriet hvor giftigheten nå er slik at fortynningskapasiteten i Glomma i værste fall ikke er tilstrekkelig for å hindre risiko for organismer i resipienten. Det betyr at man fremover kun har relativt små marginer med hensyn til økninger i mengde avløpsvann spesielt fra blekeriet.

Flere av de undersøkte avløpsvannene hadde hhv. høy og lav pH-verdi og høye konsentrasjoner av avløpsvannene vil derfor kunne gi direkte pH-effekter i en resipient med lav bufringskapasitet. Fortynningsbehovet for å unngå slike effekter i Glomma antas imidlertid å være lavere enn hva som er beregnet på grunnlag av toksisitetstestene i tabell 6.

**Tabell 6. Beregnet fortynningsbehov for å beskytte mot kroniske effekter ved langtids-eksponering av avløpsvann fra Borregaard fabrikk sammenliknet med den reelle fortynningen av avløpsvannene når de er fullt utblandet i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s).**

Avløpsvann	Laveste L(E)C <sub>50</sub> (%)	Organisme	Fortynnings-behov	Fortynning ved lav vannføring	Ratio Tilgjengelig vannføring
Ut anaerob trinn 1	8.8	Alger	227	4154	0.055
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat)	2.1	Alger	952	857	1.111
Grønnlut fra biokjel	1.04	<i>Daphnia</i>	1923	27000	0.071
Fra Blekeri + Tørkemaskin (deriv)	5.6	<i>Daphnia</i>	357	1080	0.331
Fra Pharma	1	<i>Daphnia</i>	69	43200	0.002
Sum (alle untatt Blekeri derivat)					1.24
TM+blekeri 16.10.2007 <sup>3</sup>	24	Alger	83	2571	
TM+blekeri 29.10.2007 <sup>3</sup>	>100	Alger	<20	3000	
Tømmerrenseri <sup>1</sup>	12	<i>Daphnia</i>	167	304941	
Fellesavløp <sup>1</sup>	87	Alger	23	889	
Vanillinfabrikkene <sup>1</sup>	69	<i>Daphnia</i>	29	11494	
Spraytørkanlegg <sup>1</sup>	80	Alger	25	20506	
Kokeri, lukket avløp <sup>1</sup>	14	<i>Daphnia</i>	143	42284	
Innløp Renseanlegg <sup>2</sup>	3.2	Fisk	625	1234	
Utløp Renseanlegg <sup>2</sup>	40	Fisk	50	1234	

<sup>1</sup> Fra Källqvist et al. 2005

<sup>2</sup> Fra Berge et al. 2003

<sup>3</sup> Fra Källqvist & Romstad 2008

**Tabell 7. Tilsvarende som Tabell 6 men med en midlere vannføring i Glomma tilsvarende 700 m<sup>3</sup>/s**

Avløpsvann	Laveste L(E)C <sub>50</sub> (%)	Organisme	Fortynnings-behov	Fortynning midlere vannføring	Ratio Tilgjengelig vannføring
Ut anaerob trinn 1	8.8	Alger	227	9692	0.023
Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat)	2.1	Alger	952	2000	0.476
Grønnlut fra biokjel	1.04	<i>Daphnia</i>	1923	63000	0.031
Fra Blekeri + Tørkemaskin (deriv)	5.6	<i>Daphnia</i>	357	2520	0.142
Fra Pharma	1	<i>Daphnia</i>	69	100800	0.001
Sum (alle untatt Blekeri derivat)					0.673

## 6. Referanser

Crommentujin et al 1997. Maximum permissible concentration and negligible concentrations of metals, taking background concentrations into account. RIVM report number 601501 001.

ISO 1996: "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" ISO 6341:1996. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO, 2004. Water quality- Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692:2004. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO, 2006. Water quality- determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish egg (*Danio rerio*). ISO/DIS 15088. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

Källqvist, T., Tobiesen, A. og Romstad, R. 2005. Økotoksikologisk testing av direkteutslipp til Glomma fra Borregaard fabrikker, Sarpsborg. Niva-rapport 5108, 40 s.

Källqvist, og Romstad, R. 2008. Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Borregaard Industries Limited, Sarpsborg Niva-rapport 5582, 31 s.

Berge, J.A., Källqvist, T., Romstad, R. og Tobiesen, A. 2003: Utslipp fra Borregaard Industries Ltd til Glomma – økotokstologisk karakterisering av avløpsvann og innhold av kobber og halogenforbindelser i Glomma og Hvalerområdet. Niva-rapport 4751, 79 s.

## **Appendix Testrapporter:**





Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Alger, veksthemmingstest

### *Pseudokirchneriella*

### *subcapitata*

NIVA metode K4



**Teststoff:** Grønnlut fra biokjel  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B638/1  
**Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 17.04.2009  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 14 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 1, 3,2, 10, 32 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngesbord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.7 – 20.0 °C  
**pH i kontroll** Start : 7.9 Slutt: 8.0  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.3 Slutt: 9.4  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av testprøven er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av testprøven er vist i figur 1.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	2.7	2.1-2.9	2.3	1.5-2.5	2.1	1.2-2.3

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastighet i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant veksthemmende effekt

**Kommentar:** Veksthemmingen var fullstendig ved konsentrasjoner >3.2 % NOEC=1 %.

Oslo 11.06.2009  
Test utført av  
Anja Nilsen

Testansvarlig  
August Tobiesen

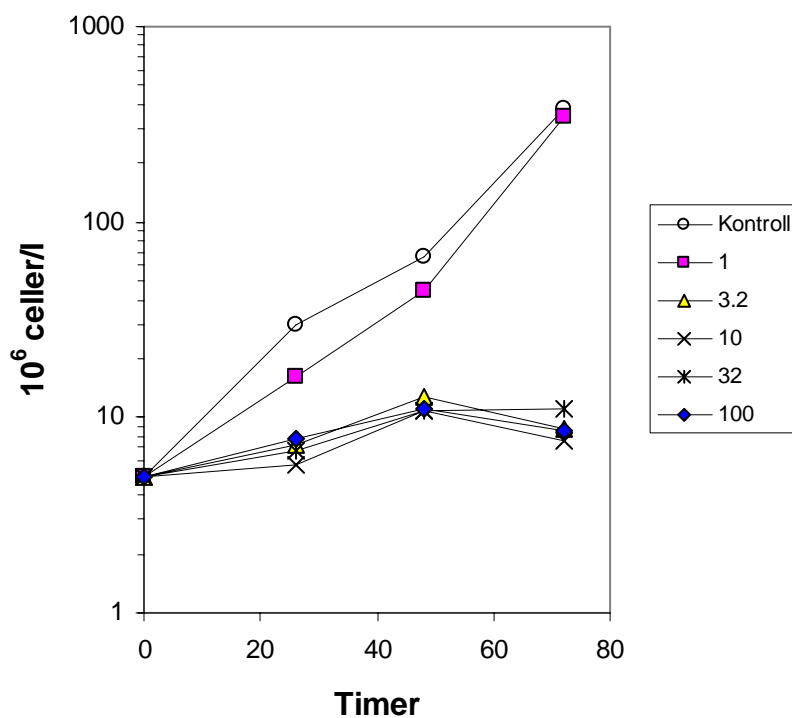


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

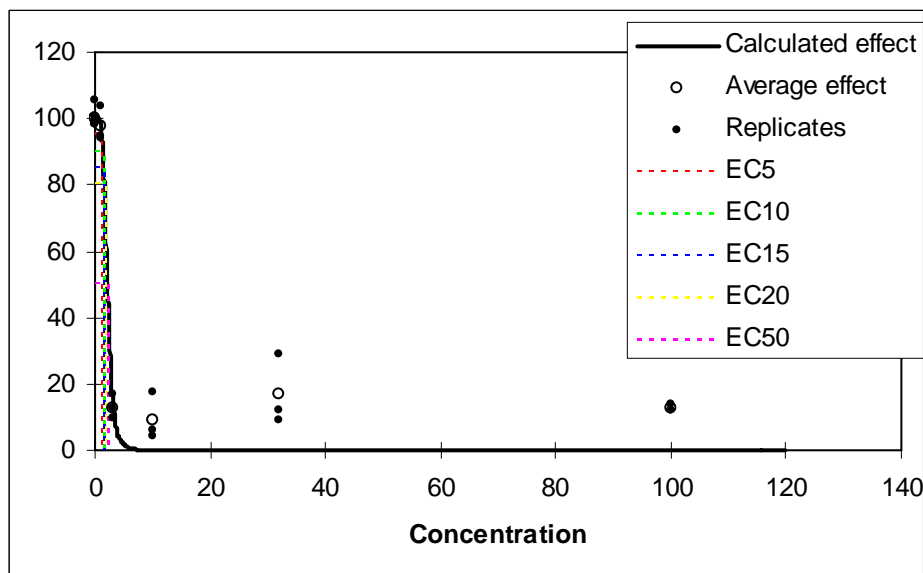


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på vekststigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) EC<sub>10</sub> og EC<sub>50</sub>.

#### Referanser:

ISO/DIS 8692 : Water quality - Algal growth inhibition test

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

Staub. R. (1961): Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

**Celletetthet målt i kulturer**

	<b>Dag 0</b>	<b>Dag 1</b>	<b>Dag 2</b>	<b>Dag 3</b>	<b>V-hast</b>	<b>V-hast %</b>
<b>Timer:</b>	0	25	53	73	d <sup>-1</sup>	<b>av kontroll</b>
<b>Kons. (%)</b>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>		
Kontroll	5	29	77	477	1.52	105
	5	30	67	356	1.42	99
	5	30	60	393	1.45	101
	5	32	64	353	1.42	98
	5	30	71	359	1.42	99
	5	28	63	349	1.41	98
1	5	19	45	446	1.50	104
1	5	15	46	302	1.37	95
1	5	14	43	297	1.36	94
3,2	5	9	15	10	0.24	17
3,2	5	7	12	9	0.18	13
3,2	5	6	11	8	0.14	10
10	5	7	12	11	0.25	17
10	5	5	9	6	0.06	4
10	5	5	11	6	0.09	6
32	5	6	11	7	0.13	9
32	5	7	11	9	0.18	12
32	5	7	11	18	0.42	29
100	5	7	10	8	0.17	12
100	5	8	12	9	0.18	12
100	5	8	11	9	0.20	14

**MIDDELVERDIER**

%

1	Mv.	29.7	67.0	381.0	1.4	100
	St. d.	1.3	6.3	49.8	0.04	3
3,2	Mv.	16.1	44.7	348.4	1.4	98
	St. d.	2.9	1.5	84.9	0.08	5
10	Mv.	7.3	12.7	8.8	0.2	13
	St. d.	1.6	2.0	1.3	0.05	3
32	Mv.	5.7	10.8	7.7	0.1	9
	St. d.	1.2	1.6	2.5	0.10	7
100	Mv.	6.7	10.9	11.2	0.2	17
	St. d.	0.5	0.3	5.6	0.16	11
Kontroll	Mv.	7.8	11.1	8.6	0.2	13
	St. d.	0.5	1.2	0.4	0.01	1
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					2.8	

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>73 timer</b>
Kontroll	7.91	8.02
1 %	8.02	8.88
3,2 %	8.00	9.20
10 %	8.03	9.45
32 %	8.00	9.42
100 %	8.32	9.25



Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Alger, veksthemmingstest

*Pseudokirchneriella*

*subcapitata*

NIVA metode K4



**Teststoff:** Ut anarob Trinn 1 **Lab. kode:** B638/2  
**Kunde:** Borregaard **Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 17.04.2009  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 10.8 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 1, 3,2, 10, 32 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.7 – 20.0 °C  
**pH i kontroll** Start : 7.9 Slutt: 7.9  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.8 Slutt: 8.0  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av testprøven er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av testprøven er vist i figur 1.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	8.8	8.4-8.9	7.6	6.9-7.8	7.0	6.2-7.2

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastighet i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant veksthemmende effekt

**Kommentar:** Veksthemmingen øket med konsentrasjonen av avløpsvann i intervallet 10-32 %. Ved konsentrasjon > 32 % var veksthemmingen fullstendig. NOEC=3.2 %.

Oslo 11.06.2009

Test utført av  
Anja Nilsen

Testansvarlig  
August Tobiesen

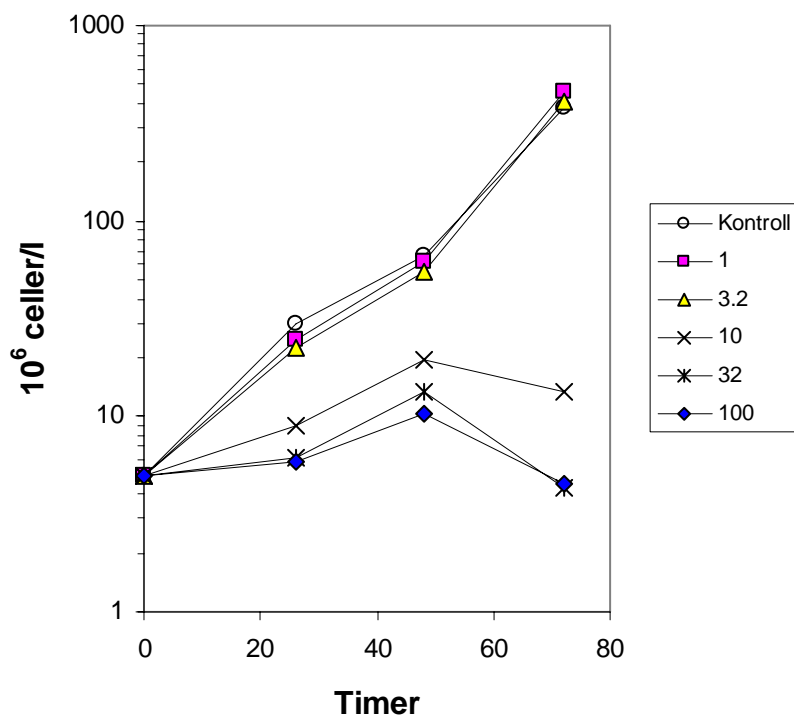


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

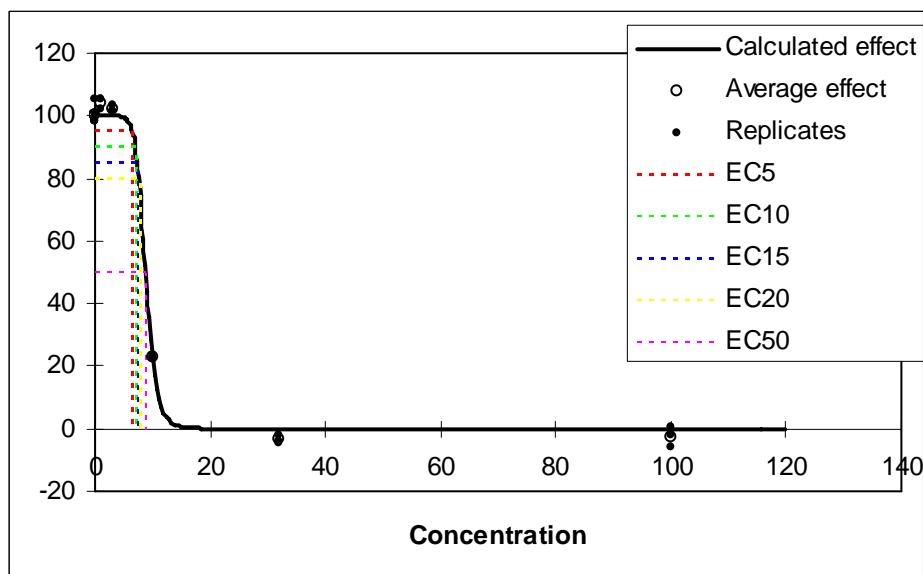


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) de ulike EC effekt nivåer

### Referanser:

ISO/DIS 8692 : Water quality - Algal growth inhibition test

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

Staub. R. (1961): Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

**Celletetthet målt i kulturer**

	<b>Dag 0</b>	<b>Dag 1</b>	<b>Dag 2</b>	<b>Dag 3</b>	<b>V-hast d<sup>-1</sup></b>	<b>V-hast % av kontroll</b>
<b>Timer:</b>	0	25	53	72		
<b>Kons. (%)</b>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>		
Kontroll	5	29	77	477	1.52	105
	5	30	67	356	1.42	99
	5	30	60	393	1.45	101
	5	32	64	353	1.42	98
	5	30	71	359	1.42	99
	5	28	63	349	1.41	98
1	5	24	52	414	1.47	102
1	5	25	75	474	1.52	105
1	5	25	61	476	1.52	105
3,2	5	23	56	404	1.46	102
3,2	5	22	54	434	1.49	103
3,2	5	22	54	399	1.46	101
10	5	9	21	14	0.34	23
10	5	9	20	13	0.33	23
10	5	8	17	13	0.32	22
32	5	6	11	4	-0.06	-4
32	5	6	13	5	-0.03	-2
32	5	6	15	4	-0.06	-4
100	5	6	9	4	-0.09	-6
100	5	6	12	5	-0.03	-2
100	5	6	9	5	0.01	1

**MIDDELVERDIER**

%

Kontroll	Mv.	29.7	67.0	381.0	1.4	100.0
	St. d.	1.3	6.3	49.8	0.0	2.8
1	Mv.	24.4	62.5	454.6	1.5	104.2
	St. d.	0.8	11.3	34.9	0.0	1.8
3,2	Mv.	22.5	54.8	412.4	1.5	102.0
	St. d.	0.8	1.3	18.9	0.0	1.0
10	Mv.	8.9	19.5	13.4	0.3	22.8
	St. d.	0.5	1.9	0.4	0.0	0.6
32	Mv.	6.1	13.2	4.3	-0.1	-3.5
	St. d.	0.1	2.0	0.2	0.0	1.3
100	Mv.	5.9	10.3	4.5	0.0	-2.6
	St. d.	0.4	1.6	0.6	0.0	3.4
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					2.8	

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>72 timer</b>
Kontroll	7.91	8.02
1 %	8.02	8.38
3,2 %	8.00	8.59
10 %	8.03	8.09
32 %	8.00	8.02
100 %	8.84	8.01





Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Alger, veksthemmingstest

*Pseudokirchneriella*

*subcapitata*

NIVA metode K4



**Teststoff:** Fra Blekeri + Tørkemaskin (acetat) **Lab. kode:** B638/3  
**Kunde:** Borregaard **Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 17.04.2009  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 3 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 1, 3,2, 10, 32 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.7 – 20.0 °C  
**pH i kontroll** Start : 7.9 Slutt: 7.9  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.3 Slutt: 9.2  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av testprøven er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av testprøven er vist i figur 1.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	2.1	1.7-2.5	0.57	0.37-0.81	0.27	0.15-0.43

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastighet i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant veksthemmende effekt

**Kommentar:** Veksthemmingen øket med konsentrasjonen av avløpsvann i intervallet 1-10 %. Ved 32 % konsentrasjon var veksthemmingen fullstendig. NOEC<1 %.

Oslo 11.06.2009

Test utført av  
Anja Nilsen

Testansvarlig  
August Tobiesen

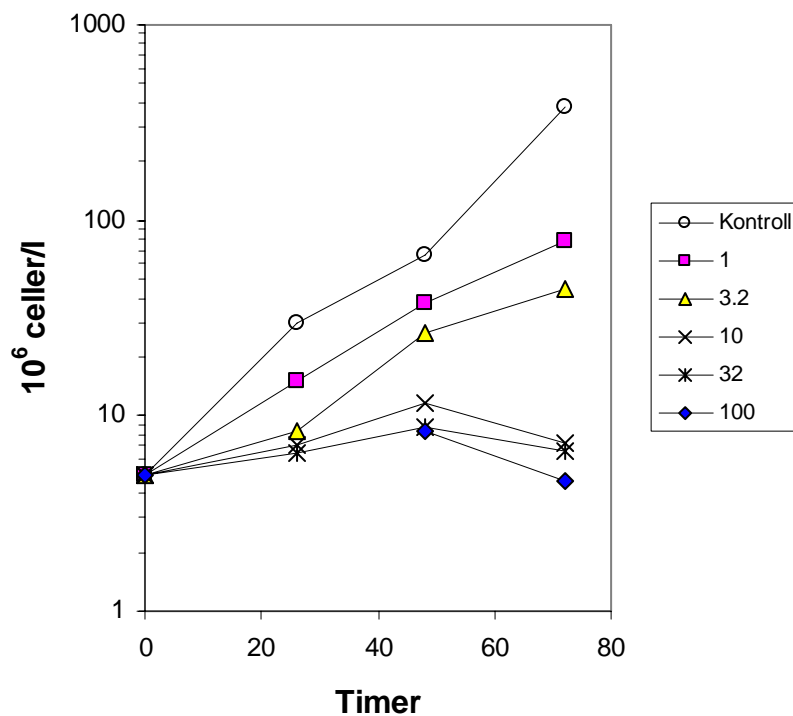


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

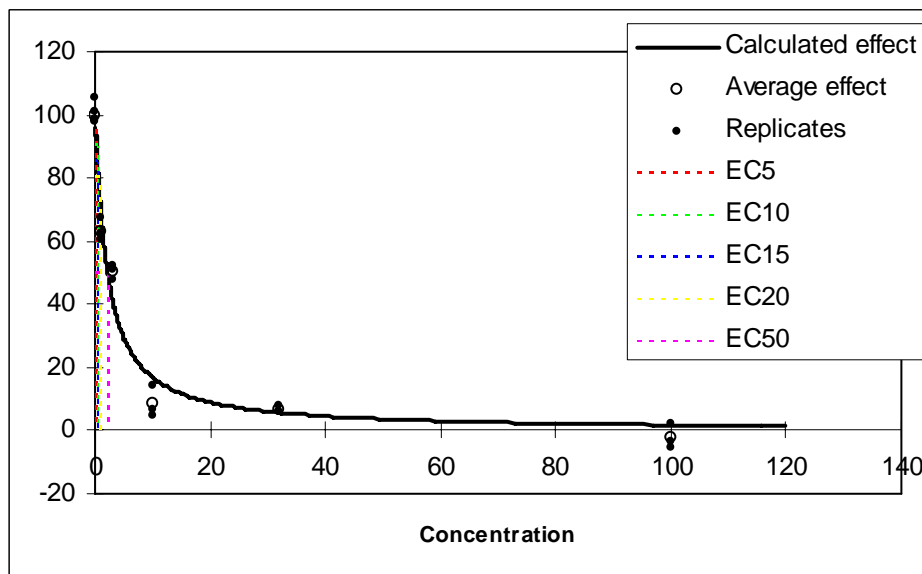


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) EC<sub>10</sub> og EC<sub>50</sub>.

#### Referanser:

ISO/DIS 8692 : Water quality - Algal growth inhibition test

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

Staub. R. (1961): Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

## Celletetthet målt i kulturer

	Dag 0	Dag 1	Dag 2	Dag 3	V-hast d <sup>-1</sup>	V-hast % av kontroll
Timer:	0	25	53	72		
Kons. (%)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>		
Kontroll	5	29	77	477	1.52	105
	5	30	67	356	1.42	99
	5	30	60	393	1.45	101
	5	32	64	353	1.42	98
	5	30	71	359	1.42	99
	5	28	63	349	1.41	98
1	5	14	32	68	0.87	60
1	5	17	43	92	0.97	67
1	5	14	39	74	0.90	62
3,2	5	9	37	47	0.75	52
3,2	5	9	22	40	0.69	48
3,2	5	7	22	45	0.73	51
10	5	6	11	9	0.20	14
10	5	7	11	6	0.07	5
10	5	7	14	7	0.09	6
32	5	7	9	6	0.08	6
32	5	7	8	7	0.11	8
32	5	6	9	7	0.09	6
100	5		8	4	-0.08	-6
100	5		9	6	0.03	2
100	5		9	4	-0.05	-3

## MIDDELVERDIER

%

Kontroll	Mv.	15.08	38.01	77.72	0.91	63.22
	St. d.	1.97	5.35	12.43	0.05	3.60
1	Mv.	8.38	26.73	44.14	0.73	50.28
	St. d.	0.90	8.52	3.76	0.03	2.00
3,2	Mv.	7.01	11.74	7.30	0.12	8.39
	St. d.	0.50	1.53	1.61	0.07	4.88
10	Mv.	6.51	8.83	6.64	0.09	6.55
	St. d.	0.29	0.68	0.30	0.01	1.02
32	Mv.		8.43	4.58	-0.03	-2.28
	St. d.		0.40	0.85	0.06	4.16
100	Mv.					
	St. d.					
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					2.8	

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>72 timer</b>
Kontroll	7.91	8.02
1 %	8.02	8.07
3,2 %	8.00	8.28
10 %	8.03	8.47
32 %	8.00	8.93
100 %	8.29	9.23



Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Alger, veksthemmingstest

*Pseudokirchneriella*

*subcapitata*

NIVA metode K4



**Teststoff:** Fra Pharma  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B640/1  
**Prøve mottatt:** 15.05.2009

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 26.05.2009  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 4 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 1, 3,2, 10, 32 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.4 – 20.4 °C  
**pH i kontroll** Start : 8.2 Slutt: 7.9  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.2 Slutt: 7.9  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av testprøven er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av testprøven er vist i figur 1.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	28.8	24-33	10.6	7.8-13.3	5.9	3.9-8.2

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastighet i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant veksthemmende effekt

**Kommentar:** Veksthemmingen øket med konsentrasjonen av avløpsvann i intervallet 3.2-100 %.  
NOEC=3.2 %.

Oslo 11.06.2009  
Test utført av  
Harald Heiaas

Testansvarlig  
August Tobiesen

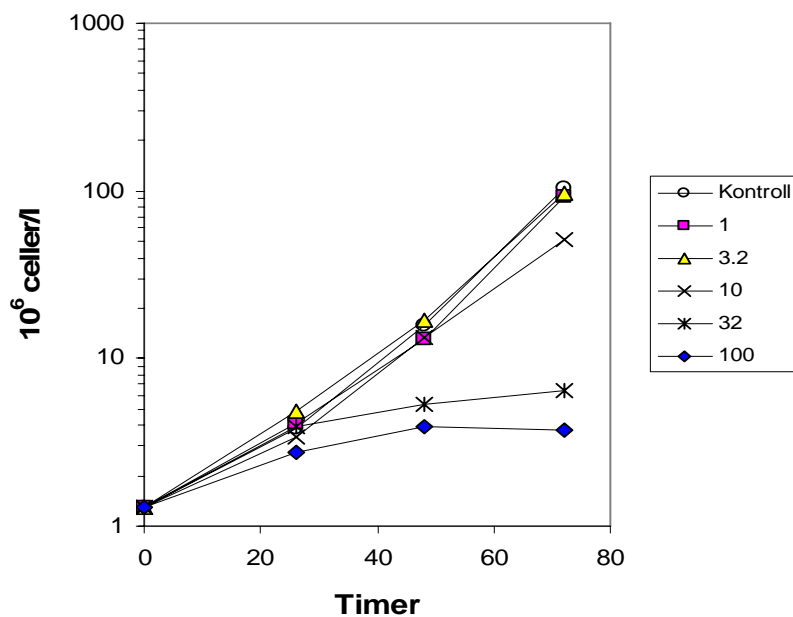


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

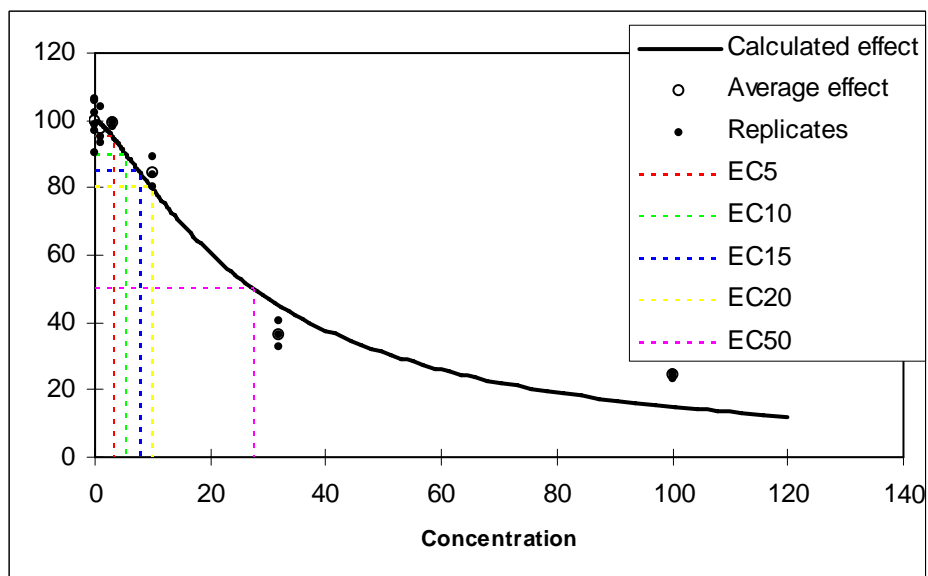


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser fra venstre EC, økende effekt nivåer

### Referanser:

ISO/DIS 8692 : Water quality - Algal growth inhibition test

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

Staub. R. (1961): Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

**Celletetthet målt i kulturer**

	Dag 0	Dag 1	Dag 2	Dag 3	V-hast d <sup>-1</sup>	V-hast % av kontroll
Timer:	0	25	53	72		
Kons. (%)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>		
Kontroll	5	4	18	109	1.48	102
	5	3	13	65	1.30	90
	5	4	15	88	1.41	97
	5	4	15	132	1.54	106
	5	4	19	127	1.53	105
	5	4	15	95	1.43	99
1	5	5	13	120	1.51	104
1	5	3	13	76	1.35	94
1	5	4	13	81	1.38	95
3,2	5	5	17	92	1.42	98
3,2	5	5	18	100	1.45	100
3,2	5	5	16	97	1.44	99
10	5	3	13	62	1.29	89
10	5	3	14	49	1.21	84
10	5	3	13	42	1.16	80
32	5	4	5	5	0.47	33
32	5	4	6	8	0.59	40
32	5	4	5	6	0.52	36
100	5	2	4	4	0.36	25
100	5	3	4	4	0.35	24
100	5	3	4	4	0.33	23

**MIDDELVERDIER**

%

Kontroll	Mv.	3.84	15.83	102.82	1.45	100.00
	St. d.	0.35	2.20	25.15	0.09	6.04
1	Mv.	4.13	12.99	92.16	1.41	97.62
	St. d.	0.66	0.49	24.15	0.08	5.72
3,2	Mv.	4.85	17.06	96.30	1.43	99.11
	St. d.	0.21	0.70	3.76	0.01	0.90
10	Mv.	3.40	13.28	50.98	1.22	84.20
	St. d.	0.03	0.31	9.75	0.06	4.33
32	Mv.	3.88	5.33	6.38	0.53	36.42
	St. d.	0.29	0.35	1.08	0.06	3.88
100	Mv.	2.79	3.95	3.70	0.35	24.09
	St. d.	0.45	0.15	0.16	0.01	0.96
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					6.0	

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>72 timer</b>
Kontroll	8.17	7.89
1 %	8.02	8.07
3,2 %	8.00	7.88
10 %	8.03	7.89
32 %	8.00	7.93
100 %	8.29	7.89





Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Alger, veksthemmingstest

*Pseudokirchneriella*

*subcapitata*

NIVA metode K4



**Teststoff:** Fra Blekeri + Tørkemaskin (derivat) pH 12      **Lab. kode:** B640/2  
**Kunde:** Borregaard      **Prøve mottatt:** 15.05.2009

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 26.05.2009  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 4 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 1, 3,2, 10, 32 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.4 – 20.4 °C  
**pH i kontroll** Start : 7.9 Slutt: 8.0  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.3 Slutt: 9.2  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av testprøven er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av testprøven er vist i figur 1.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	28.8	24-33	10.6	7.8-13.3	5.9	3.9-8.2

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastighet i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant veksthemmende effekt

**Kommentar:** Mye partikler i de høyere konsentrasjonene ble justert for ved å måle fluorescense på siste dag, derfor ble vekstkurvene negative for disse.

Oslo 11.06.2009  
Test utført av  
Harald Heiaas

Testansvarlig  
August Tobiesen

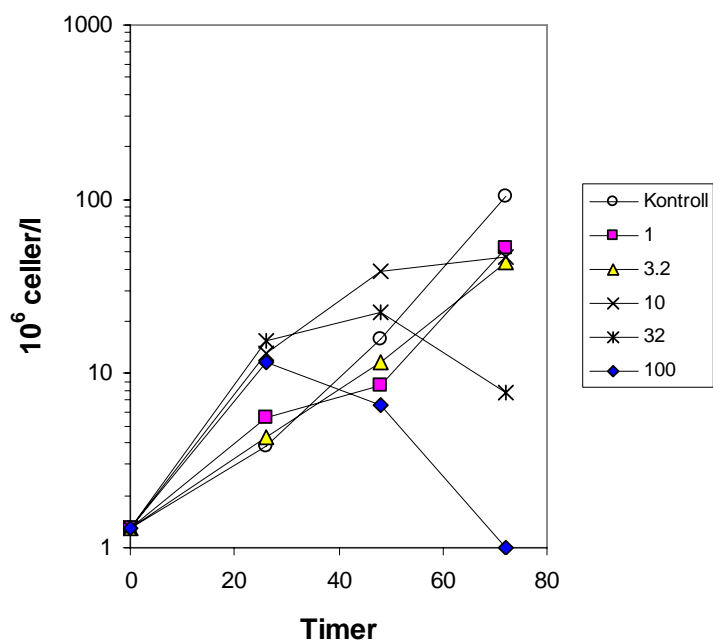


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann. Interferens fra utfelte partikler har gitt usikre målinger av celletetthet etter ett og to døgn i konsentrasjonene over 3.2 %. Celletallet etter tre døgn er basert på fluorescensmålinger og dermed mer pålitelige.

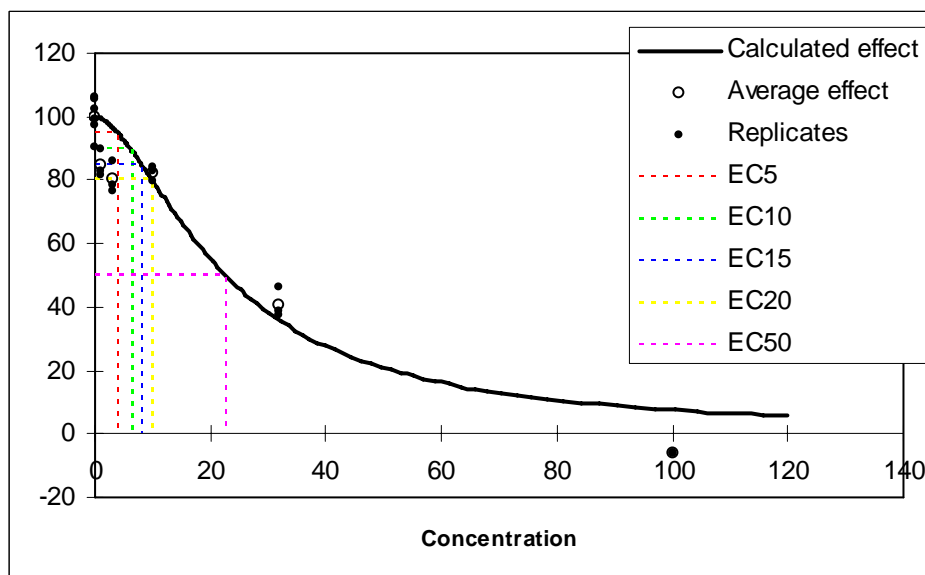


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) EC<sub>10</sub> og EC<sub>50</sub>.

### Referanser:

ISO/DIS 8692 : Water quality - Algal growth inhibition test

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

Staub, R. (1961): Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

**Celletetthet målt i kulturer**

	<b>Dag 0</b>	<b>Dag 1</b>	<b>Dag 2</b>	<b>Dag 3</b>	<b>V-hast</b>	<b>V-hast %</b>
<b>Timer:</b>	0	25	53	72		
<b>Kons. (%)</b>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	d <sup>-1</sup>	av kontroll
Kontroll	5	4	18	109	1.48	102
	5	3	13	65	1.30	90
	5	4	15	88	1.41	97
	5	4	15	132	1.54	106
	5	4	19	127	1.53	105
	5	4	15	95	1.43	99
1	5	9	8	47	1.20	83
1	5	4	8	65	1.30	90
1	5	4	9	45	1.18	82
3,2	5	4	12	55	1.25	86
3,2	5	4	10	36	1.10	76
3,2	5	4	13	39	1.13	78
10	5	2*	38*	42	1.16	80
10	5	18*	36*	48	1.20	83
10	5	19*	43*	49	1.21	84
32	5	18*	21*	7	0.56	39
32	5	14*	22*	10	0.67	46
32	5	15*	25*	7	0.54	37
100	5	13*	6*	1	-0.09	-6
100	5	11*	7*	1	-0.09	-6
100	5	11*	6*	1	-0.09	-6

**MIDDELVERDIER**

%

Kontroll	Mv.	3.84	15.82	102.82	1.45	100.00
	St. d.	0.35	2.19	25.15	0.09	6.04
1	Mv.	5.54	8.47	52.37	1.23	84.79
	St. d.	3.10	0.35	10.72	0.07	4.50
3,2	Mv.	4.28	11.70	42.98	1.16	80.15
	St. d.	0.17	1.14	10.15	0.08	5.19
10	Mv.	13.10	38.85	46.40	1.19	82.25
	St. d.	9.63	3.27	4.04	0.03	2.06
32	Mv.	15.38	22.49	7.77	0.59	40.81
	St. d.	2.15	1.88	1.69	0.07	4.78
100	Mv.	11.68	6.53	1.00	-0.09	-6.04
	St. d.	0.73	0.37	0.00	0.00	0.00
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					6.0	

\* Interferens fra utfelte partikler har gitt usikre målinger av celletetthet etter ett og to døgn i konsentrasjonene over 3.2 %. Celletallet etter tre døgn er basert på fluorescensmålinger og dermed mer pålitelige.

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>72 timer</b>
Kontroll	8.26	7.96
1 %	8.02	7.89
3,2 %	8.00	7.88
10 %	8.03	7.81
32 %	8.00	7.76
100 %	8.12	7.53



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
***Daphnia magna***  
NIVA metode K9



**Teststoff:** Grønnlut fra biokjel (acetat)  
**Kunde:** Borregård

**Lab. kode:** B638/1  
**Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Pseudokirchneriella subcapitata* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 28.4.09 – 30.4.09

**Forbehandling av prøve** GF/C filtrert, pH justert til  $7,8 \pm 0,2$  med 10M HCl

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 0,6, 1, 1,6, 2,5, 4 %

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur** Min: 19,6 Max: 20,5

**pH i kontroll** Start: 7,8 Slutt: 8,03

**pH i høyeste kons.** Start: 7,65 Slutt: 8,72

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 9,97 Høyeste konsentrasjon: 9,68

**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Probit (Statens Naturvårdsverk, 1989)

**Resultater:** Det ble observert immobilisering på alle konsentrasjoner. Høyeste konsentrasjon som gav full immobilisering var 4 %. Det ble observert mer immobilisering i 0,6 og 1 % enn i 1,6 og 2,5% ved 24 timer, og i 1% enn 1,6 % ved 48 timer. pH økte med ca. 1 enhet i alle konsentrasjoner i løpet av forsøket og dette kan ha påvirket resultatet.

		24 timer			48 timer		
Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	2,41	-	0,34	1,04	-	-

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av grønnlut fra biokjel.

Kons. (%)	Antall Daphnia	Immobilisert 24 tim.	Immobilisert 48 tim.	pH start	pH 48 tim.	O <sub>2</sub> 48 tim (mg/l)
0,6	24	8	11	7,76	8,63	9,38
1	23	6	18	7,68	8,53	9,44
1,6	24	3	11	7,85	8,70	9,51
2,5	24	6	22	7,81	8,87	9,63
4	23	23	23	7,65	8,72	9,68
Kontroll	22	0	0	7,8	8,03	9,97

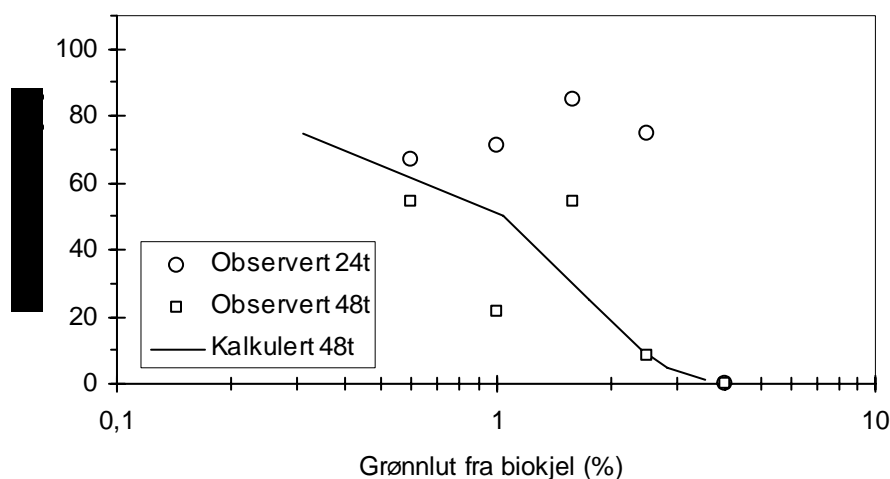


Fig. 1. Grønnlut fra biokjel på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer.

Oslo, 5.06.2009

Utført av:

Harald Hasle Heiaas

Test ansvarlig:

August Tobiesen

Baird, D. J. et al, 1991, A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of *Daphnia magna* Strauss, Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 257 - 265.

Staub, R., 1961, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens*, D. C., Schweiz, Z., Hydrol, 23, 82-198.

Elendt, B.-P. 1990, Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Strauss. Protoplasma, 154, 25-33.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
***Daphnia magna***  
NIVA metode K9



**Teststoff:** Utslipp anarobi trinn 1  
**Kunde:** Borregård

**Lab. kode:** B638/2  
**Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Pseudokirchneriella subcapitata* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 28.4.09 – 30.4.09

**Forbehandling av prøve** GF/C filtrert, tilsatt næringsstamløsninger (ISO6341)

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 10, 18, 32, 56, 100%

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur (°C)** Min: 19,6 Max: 20,5

**pH i kontroll** Start: 7,8 Slutt: 8,03

**pH i høyeste kons.** Start: 7,83 Slutt: 8,02

**Oksygenmetning, 48 t (mg/l)** Kontroll: 9,97 Høyeste konsentrasjon: 1,68

**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Probit (Statens Naturvårdsverk, 1989)

**Resultater:** Den laveste konsentrasjonen uten effekt var 10% etter 48 t og høyeste konsentrasjon med full immobilisering var 100%. pH økte i løpet av forsøket. O<sub>2</sub> metningen i den høyeste konsentrasjonen var under 2 mg/L som er et krav for et gyldig resultat, likevel vil ikke EC<sub>50</sub> 48t endres særlig hvis konsentrasjonen tas ut av beregningen. EC<sub>50</sub> 24t vil derimot bli over 100% hvis konsentrasjonen tas ut av beregningen.

		24 timer			48 timer		
Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	84	73 – 99	44	43	37 – 50	22

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av utslipp fra anaerobi trinn 1.

Kons. (%)	Antall Daphnia	Immobilisert 24 tim.	Immobilisert 48 tim.	pH start	pH 48 tim.	O <sub>2</sub> 48 tim (mg/l)
10	24	0	0	7,72	8,50	9,12
18	22	1	1	8,00	8,63	9,08
32	22	2	8	7,97	8,75	9,11
56	24	2	18	7,95	8,73	8,18
100	23	17	23	7,83	8,02	1,68
Kontroll	22	0	0	7,8	8,03	9,97

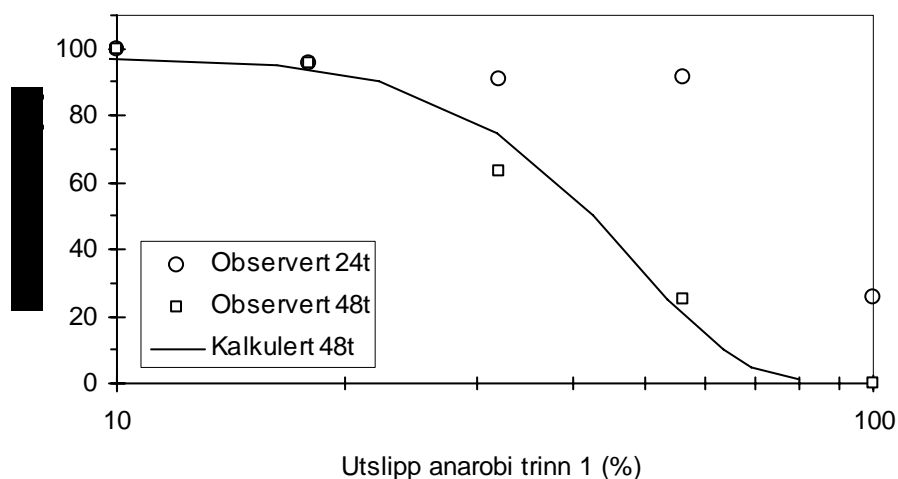


Fig. 1. Utslipp fra anaerobi trinn 1 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer.

Oslo, 5.6.09

Utført av:  
Harald Hasle Heiaas

Test ansvarlig:  
August Tobiesen

Baird, D. J. et al, 1991, A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of *Daphnia magna* Strauss, Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 257 - 265.

Staub, R., 1961, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens*, D. C., Schweiz, Z., Hydrol, 23, 82-198.



Elendt, B.-P. 1990, *Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna* Strauss. Protoplasma, 154, 25-33.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
***Daphnia magna***  
NIVA metode K9



**Teststoff:** fra Blekeri + tørkemaskin pH 2  
**Kunde:** Borregård

**Lab. kode:** B638/3  
**Prøve mottatt:** 17.04.2009

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Pseudokirchneriella subcapitata* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 23.4.09 – 25.4.09

**Forbehandling av prøve** GF/C filtrert, tilsatt næringsstamløsninger (ISO6341), pH justert med 1M NaOH

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 1, 1,8, 3,2, 5,6, 10, 32 %

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur (°C)** Min: 19,9 Max: 20,6

**pH i kontroll** Start: 7,6 Slutt: 7,95

**pH i høyeste kons.** Start: 7,71 Slutt: 7,79

**Oksygenmetning, 48 t (mg/l)** Kontroll: 9,24 Høyeste konsentrasjon: 9,40

**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Probit (Statens Naturvårdsverk, 1989)

**Resultater:** Den laveste konsentrasjonen uten effekt var 10% ved 24 og 48 timer. Full immobilisering ble observert i 32% ved 48 timer. Det ble også observert immobiliserte individer i den laveste konsentrasjonen (1%) ved 24 og 48 timer, men ikke i de høyere konsentrasjonene. 10 % bakgrunnsdødelighet er akseptert i denne testen og kan således ikke relateres til teststoffet.

		24 timer			48 timer		
Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	27	17 – 48	15	19	10 – 75	9

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av utslipp fra anaerob trinn 1.

Kons. (%)	Antall Daphnia	Immobilisert 24 tim.	Immobilisert 48 tim.	pH start	pH 48 tim.	O <sub>2</sub> 48 tim (mg/l)
1	22	1	2	7,84	7,75	9,20
1,8	22	0	0	7,93	7,65	9,08
3,2	24	0	0	7,94	7,69	9,19
5,6	22	0	0	7,93	7,66	9,22
10	26	0	0	7,79	7,64	9,24
32	25	18	25	7,71	7,79	9,40
Kontroll	24	0	0	7,6	7,95	9,24

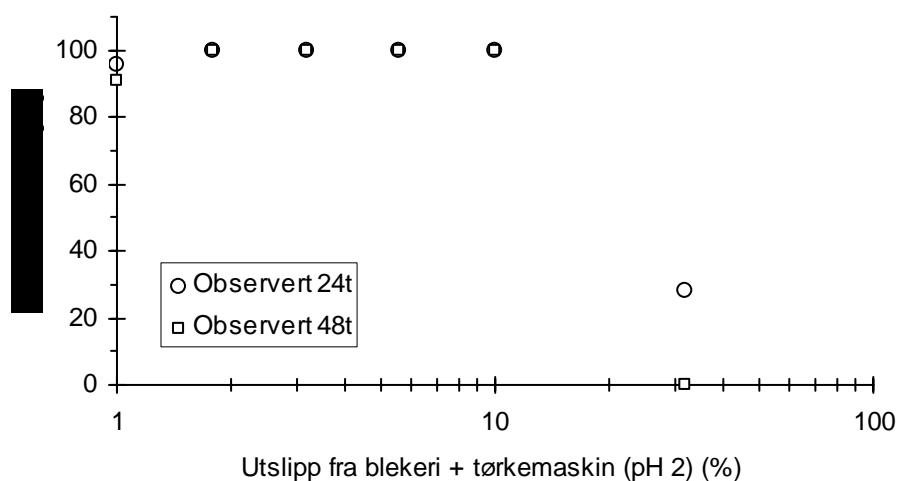


Fig. 1. Utslipp fra blekeri + tørkemaskin (pH 2) på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer.

Oslo, 5.6.09

Utført av:

Harald Hasle Heiaas

Test ansvarlig:

August Tobiesen

Baird, D. J. et al, 1991, A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of *Daphnia magna* Strauss, Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 257 - 265.

Staub, R., 1961, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens*, D. C., Schweiz, Z., Hydrol, 23, 82-198.

Elendt, B.-P. 1990, Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Strauss. Protoplasma, 154, 25-33.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet

### *Daphnia magna*

NIVA metode K9



**Teststoff:** Avløp fra Pharma  
**Kunde:** Borregård

**Lab. kode:** B640/1  
**Prøve mottatt:** 15.5.09

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Pseudokirchneriella subcapitata* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 26.5.09 – 28.5.09

**Forbehandling av prøve** GF/C filtrert, tilsatt stamløsningssalter (ISO 6341) Justert til pH 8 med saltsyre

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 1, 3,2, 10, 32, 100%

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur** Min: 20,0 Max: 20,6

**pH i kontroll** Start: 7,92 Slutt: 7,78

**pH i høyeste kons.** Start: 7,82 Slutt: 8,05

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8,98 Høyeste konsentrasjon: 8,74

**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Probit (Statens Naturvårdsverk, 1989)

**Resultater:** Det ble observert immobilisering i alle konsentrasjonene både ved 24 og 48 t. Laveste konsentrasjon som gav 100% immobilisering ved 48t var 3,2 %. Salinitet målt med et håndholdt refraktometer. For konsentrasjonsserien var saliniteten 0, 1, 2, 4 og 11‰. I et kontroll kar med 10‰ ble alle forsøksdyrene ble immobilisert etter 24 t. Det ble ikke gjennomført kontroller med lavere salinitet og det er derfor vanskelig å vite om effekten som observeres kommer av høy salinitet i prøven eller andre toksiske egenskaper ved prøven. Det ble observert høyere immobilisering i 3,2 % enn i høyere konsentrasjoner, det ble derfor kalkulert to EC<sub>50</sub> (24 t) verdier, henholdsvis med og uten observasjonene fra 3,2 %. Det er sistnevnte resultat som er gjengitt under.

		24 timer			48 timer		
Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	13,5	-	-	< 1	-	-

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av vann fra Borregård (pH 12)

Kons. (%)	Antall Daphnia	Immobilisert 24 tim.	Immobilisert 48 tim.	pH start	pH 48 tim.	O <sub>2</sub> 48 tim (mg/l)	Salinitet PSU
1	22	7	18	7,82	7,79	8,63	0
3,2	23	19	23	7,97	7,80	8,73	1
10	21	11	21	7,67	7,80	8,75	2
32	20	12	20	7,87	7,83	8,74	4
100	22	22	22	7,82	8,05	8,74	11
Kontroll	25	0	0	7,92	7,78	8,98	0,5

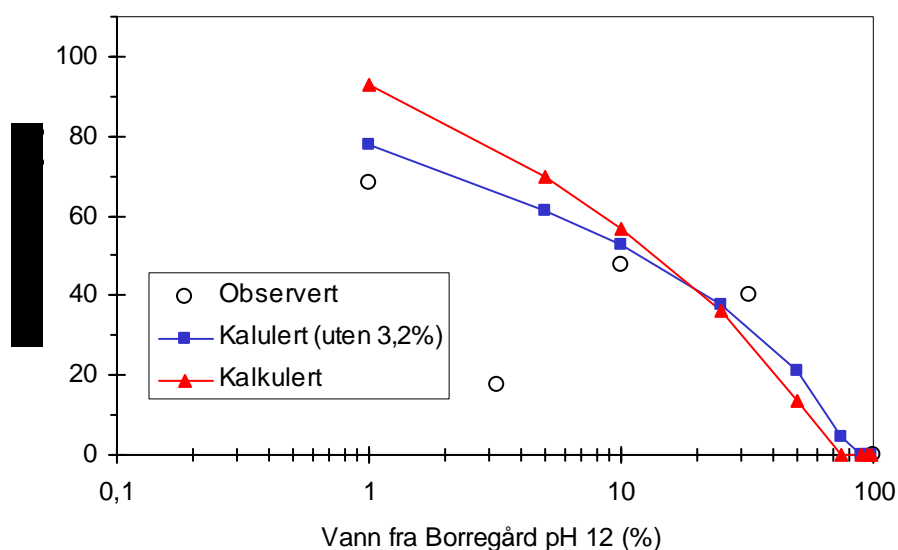


Fig. 1. Vann fra Pharma på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 timer.

Oslo, 4.6.09

Utført av:  
Harald Hasle Heiaas

Test ansvarlig:  
August Tobiesen

Baird, D. J. et al, 1991, A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of *Daphnia magna* Strauss, Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 257 - 265.  
 Staub, R., 1961, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens*, D. C., Schweiz, Z., Hydrol, 23, 82-198.  
 Elendt, B.-P. 1990, Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Strauss. Protoplasma, 154, 25-33.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
***Daphnia magna***  
NIVA metode K9



**Teststoff:** Utslipp fra blekeri + tørkemaskin (derivat)      **Lab. kode:** B640/2  
**Kunde:** Borregård      **Prøve mottatt:** 15.05.2009

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Pseudokirchneriella subcapitata* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 26.05.09-28.05.09

**Forbehandling av prøve** GF/C filtrert, tilsatt stamløsningsalter (ISO 6341). pH=4 justert til pH=8 med 1M NaOH

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 1, 3,2, 10, 32, 100 %

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur** Min: 20,0      Max: 20,6

**pH i kontroll** Start: 7,92      Slutt: 7,78

**pH i høyeste kons.** Start: 7,79      Slutt: 7,37

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8,98      Høyeste konsentrasjon: 5,55

**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Probit (Statens Naturvårdsverk, 1989)

**Resultater:** Det ble observert immobilisering av *Daphnia* fra 10% (74% immobilisert) etter 24 timer og fra 3,2 % (0,4% immobilisert) fra 48 t. Det er en veldig brå overgang fra ingen effekt til full immobilisering og dette gjør det ikke mulig å beregne en EC<sub>50</sub> med probit analyse isted ble det benyttet ble EC<sub>50</sub> beregnet som midtpunktet mellom log 10 og log 3,2. . Laveste konsentrasjon som gir full immobilisering er henholdsvis 32 og 10% etter 24 og 48 timer. Høyeste konsentrasjon der det ikke observeres noen effekt er henholdsvis 3,2 og 1% etter 24 og 48 timer. Saliniteten i prøvene ble målt med et refraktometer og saliniteten i konsentrasjonsserien var 0,5, 1, 2, 4, 10 PSU. I et kontroll kar med 10‰ ble alle forsøksdyrene ble immobilisert etter 24 t. Det ble ikke gjennomført kontroller med lavere salinitet og det er derfor vanskelig å vite om effekten som observeres kommer av høy salinitet eller andre toksiske egenskaper ved teststoffet.

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	5,7	-	-	5,7	-	-

\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Observert immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av vann fra Borregård (pH 3,96)

Kons. (%)	Antall Daphnia	Immobilisert 24 tim.	Immobilisert 48 tim.	pH start	pH 48 tim.	O <sub>2</sub> 48 tim (mg/l)	Salinitet
1	21	0	0	7,65	7,81	8,96	0,5
3,2	24	0	1	7,79	7,74	8,69	1
10	23	17	23	7,65	7,63	8,50	2
32	20	20	20	7,95	7,43	7,56	4
100	25	25	25	7,79	7,37	5,55	10
Kontroll	25	0	0	7,92	7,78	8,89	0,5

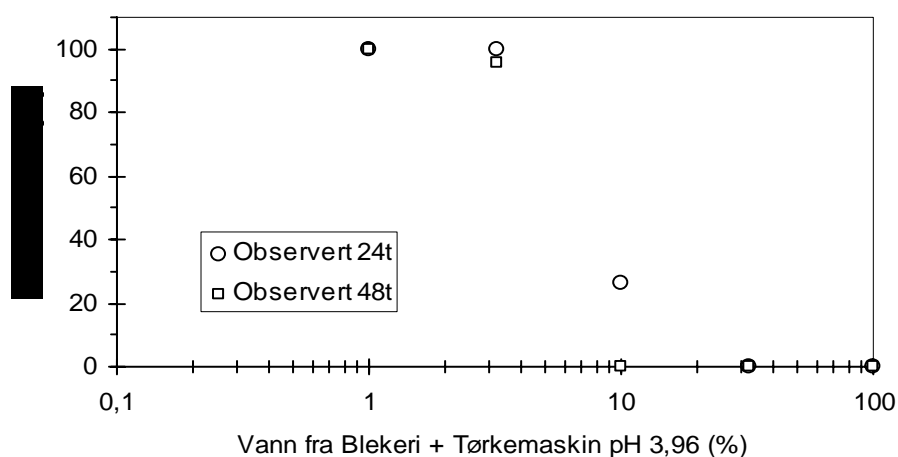


Fig. 1. Utslipp fra blekeri + tørkemaskin (pH 3,96) på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer.

Oslo, 4.06.2009

Utført av:

Harald Hasle Heiaas

Test ansvarlig:

August Tobiesen

Baird, D. J. et al, 1991, A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of *Daphnia magna* Strauss, Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 257 - 265.

Staub, R., 1961, Ernährungsphysiologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens*, D. C., Schweiz, Z., Hydrol, 23, 82-198.

Elendt, B.-P. 1990, Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Strauss. Protoplasma, 154, 25-33.



Norsk Institutt  
for  
Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - juvenil  
Piggvar  
(Semistatisk eksponering)  
*Scophthalmus maximus*



<b>Teststoff:</b>	<b>Grønnlut fra biokjel pH=14</b>	<b>Lab. kode:</b>	<b>B638/1</b>
<b>Kunde:</b>	<b>Borregaard</b>	<b>motatt:</b>	<b>17.04.09</b>
			<b>og</b>
			<b>11.05.09</b>

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med utkastet til PARCOM toksistets test slik det er beskrevet av Phil McWilliams, TERRA Environmental Laboratory A/S 1994 i "Draft procedure, Acute test with juvenile turbot *Scophthalmus maximus*", testen bygger på "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test).

## Testorganisme

Juvenile Piggvar (*Scophthalmus maximus*), med middelvekt 11.0 g og middel lengde 8.4 cm. Fisken var hentet fra Maximus AS i Danmark.

## TEST BETINGELSER

Test metode:	Draft PARCOM test Akutt test på juvenile piggvar
Test organisme:	Piggvar <i>Scophthalmus maximus</i>
Test parameter:	Mortalitet observert hvert døgn i 4 døgn.
Opprinnelse av fisk:	Maximus AS, Piggvar klekket i uke 40
Ankomst Solbergstrand:	Piggvar ankom Solbergstrand November 2008
Start dato:	20 April 2009
Test konsentrasjoner:	
Tillagning av testløsninger	Avløpsvannet ble fortynnet med 60m vann fra Drøbak ved hjelp av måleylindre og målekolber. Testløsningsvolumet var 25l.
Test medium:	60 m sjøvann fra Drøbak
Test beholdere:	80 l glass akvarium plassert i et gjennomstrømnings vannbad
Test betingelser	
Lys:	12h lys : 12 h mørke med dagslys type lysstoffrør
Temperatur:	Målt daglig med termometer, høyeste tempratur var 15.8 °C og laveste tempratur var 15.1 °C.
pH:	kontroll: start: pH 6,9 slutt: pH 7,7, høyeste konsentrasjon: start: pH 8,2 slutt: pH 7.6
Oksygen:	På grunn av høyt innhold av organisk stoff ble det antatt at potensiale for høyt oksygenforbruk var stort. Alle kar ble derfor luftet. Det ble målt >60% metning i alle kar under hele forsøket.
Salinitet i kontroll:	i kontroll: 16,9 PSU, i høyeste konsentrasjon: 30 PSU
Beregning av LC <sub>50</sub> *	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot log konsentrasjon på log papir. LC50 beregnes grafisk eller statistisk med Probit metoden når mulig.
Beregning av NOEC **	t-test (p<0.05)



## Test materiale

Avløpsvannet med pH=14 ble levert i 2 x 25 l plastkanner. Prøvematerielet ble oppbevart ved 14 °C inntil bruk. Avløpsvannet ble målt til en pH=12,5, og måtte nøytraliseres med HCl før bruk. Dette medfører dannelse av salt, derfor ble det benyttet piggvar i testen istedet for ørret som var planen. Aktuelle testkonsentrasjoner ble laget før pH justering dette medfører en fortykning av prøven på ca 20 %.

## Utførelse

Testen var planlagt utført med ørret og det ble utført en test med ørret men her døde all fisken ned til 10 % (laveste testkonsentrasjon). Da man sjekket saltholdighet i testvannet viste den en meget høy saltholdighet i overkant av 60 PSU etter nøyatrlisering. For å avklare gifteffekter utenom salholdighet så ble testen repetert med piggvar. Forsøket ble utført i glassakvarier med 50 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon. Konsentrasjoner testet var 5 konsentrasjoner 5,6, 10, 18, 32 og 42 % løsning av avløpsvann i sjøvann. Forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen ved forsøksslutt var >60 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen ble målt hver dag med termometer. Jevn temperatur ble sikret ved at akvariene sto i et klimarom med temperatur på 14 °C.

## Resultater

I tabell 1 er dødeligheten oppført for hver konsentrasjon av avløpsvannet. Som det fremgår av tabellen døde fisken raskt ved alle unntatt den laveste testkonsentrasjonen . Partiell dødelighet ble oppnådd ved laveste testkonsentrasjon på 5,6 % etter 96 timer. LC50 settes derfor til 5,6 % i denne testen da man ikke kan beregne LC50 mer nøyaktig i mangel av lavere testkonsentrasjoner.

## Avvik fra protokoll

Ingen

Tabell 1. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Grønnlut fra biokjel pH=14". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
5,6	0	0	1	4
10	7	7	7	7
18	7	7	7	7
32	7	7	7	7
42	7	7	7	7
LC50 %	7,5	7,5	7,5	5,6
NOEC %	5,6	5,6	5,6	<5,6

## Konklusjon

Testresultatene er summert i tabell 2. Det var full dødelighet i alle testkonsentrasjoner unntatt den laveste på 5,6 % hvor man hadde partiell dødelighet. I mangel av resultater for lavere testkonsentrasjoner så settes LC50 =5,6 %.

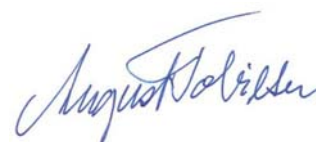
Tabell 2. Testresultater med " Grønnlut fra biokjel pH=14" etter 96 timer.

Test parameter	Benevnelse	LC50	NOEC*
Mortalitet	%	5,6	<5,6

\*med hensyn til mortalitet

Testen utført av: Nassir ElShaik

Testansvarlig:



August Tobiesen

## Appendix

**Tabell 1.** Tillaging av testløsninger. Testløsninger ble laget som beskrevet nedenfor. Deretter så ble pH i testløsningene justert til ca pH=7-8 ved hjelp av HCl.

Dato	Test konsentrasjon								
	%								
	0,56	1,0	1,8	3,2	5,6	10	18	32	56
	Liter avløpsvann								
25.05.09	0,26	0,5	0,9	1,6	2,8	5	9	16	28

**Tabell 2.** Oksygen og pH. Oxygen was measured before renewal and at the end of the test.

Date	Test Løsning %	Saltholdighet PSU	pH	Oksygen metning %	Temperatur °C
5.05.09	K	18.6	8.27	8.95	11.3
5.05.09	5,6	19.8	7.15	8.4	10.4
5.05.09	10	19.6	6.99	8.7	11.1
5.05.09	18	20	7.13	8.38	12.3
5.05.09	32	20	7.16	9.13	12
5.05.09	42	20.2	7.11	8.72	14
9.05.09	K	18.6	7.72	8	12.3
9.05.09	5,6	19.8	7.85	10.4	12
9.05.09	10	19.6	7.89	10.1	12.4
9.05.09	18	20	7.57	11.8	12.3
9.05.09	32	20	7.61	7.3	13
9.05.09	42	20.2	7.69	6	13.1

**Tabell 3** Fiske vekt (g) and lengde (cm)

	fisk									
Vekt	5.7	6	6.61	6.62	8.3	8.5	6	5.1	5.3	2.68
Lengde	7.7	8	8	8.2	8.6	8.4	6.8	6.1	6.3	5

Gjennomsnitts vekt = 6.0 g, Gjennomsnitts lengde = 7.1 cm



Norsk Institutt for  
Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

*Salmo trutta*

NIVA metode K15



**Teststoff:** Ut anaerob trinn 1 pH 8  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B638/2  
**Motatt:** 17.04.09

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modifisert Norsk Standard, NS 4717; "Bestemmelse av kjemiske produkters og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskevekt/vannvolum var (0,78 g/l) og er altså innenfor den foreslåtte fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203. Da testen skulle utføres som en statisk test og man antok at avløpsvannet hadde høyt innhold av nedbrytbart organisk material ble det likevel benyttet lufting av mediet under forsøket.

## Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 5,5 g og middellengde 7,8 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen. Mortalitet hos fisk i en periode på 7 dager før teststart var <1 %. Testen ble utført ved 5 konsentrasjoner 10, 18, 32, 42 100 % av avløpsvannet. Lufting ble benyttet i alle testløsninger.

## Test detaljer

Test organisme:	Bekkeørret ( <i>Salmo trutta</i> )
Test parameter:	Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk:	Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk:	Fisk ankom Solbergstrand 14 April
Dato for oppstart:	20 April 2009
Test konsentrasjoner:	10, 18, 32, 42 og 100 % avløpsvann
Tillagning av løsninger:	Test utløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann på Solbergstrand.
Test Medium:	Brønnvann ubehandlet
Test system:	80 l glass akvarier fylt med 50 l testløsning

## Test betingelser

Lys:	16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur:	Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 12,0 °C og minimum var 11,5 °C.
pH:	Målt ved start og slutt. Høyeste test konsentrasjon start 7,1 slutt 7,7. Kontroll hadde start 7,2 fog slutt 8,1
Oksygen:	Målt til å være >90 % fordi alle kar ble luftet kontinuerlig.
Beregning av LC50	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC	Høyeste konsentrasjon uten toksiske effekter.

## Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 50 l testvann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 10, 18, 32, 42 og 100 % av avløpsvannet. Det var mye partikler i vannet. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann til ønsket konsentrasjon. Forsøket pågikk i 4 døgn. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen under forsøkene var 11,5-12,0 °C.

## Resultater

I tabell 1 er oppført dødeligheten i hver konsentrasjon av avløpsvann. Dødelighet ble observert i testløsninger ned til 32 %. Det ble ikke observert død fisk eller toksiske symptomer ved 18 % eller lavere. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter og var i denne testen 18 %. LC50 er 24 % i denne testen. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 2. Alle målte data er gjengitt i appendix.

### Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokollen.

Tabell 1. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av " Ut anaerob trinn 1 pH 8 ". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
Kontroll	0	0	0	0
10	0	0	0	0
18	0	0	0	0
32	6 (86 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	1 (14 %)
42	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
100	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
LC50	24 %	24 %	24 %	24 %
NOEC	18 %	18 %	18 %	18 %

**Konklusjon**

Testresultatene for " Ut anaerob trinn 1 pH 8 " er summert opp i tabell 2.

Tabell 2. Sammendrag av resultater for toksisitets test med " Ut anaerob trinn 1 pH 8 " på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	24 %	24 %	24 %	24 %
NOEC (%)	18 %	18 %	18 %	18 %

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

## Appendix

**Tabell 1.** Tillaging av testløsninger (50 liter):

Date	Test konsentrasjon				
	%				
	10	18	32	42	100
	Liter avløpsvann				
20.04.09	5	9	16	21	50

**Table 2.** Oksygen og pH..

Date	Test Løsning %	pH start	pH Slutt 96 timer	Oksygen metning % 96 timer
20.04.09	K	7.22	8.07	>90
20.04.09	10	7.28	8.58	>90
20.04.09	18	7.27	8.63	>90
20.04.09	32	7.21	8.75	>90
20.04.09	56	7.25	8.78	>90
20.04.09	100	7.18	8.37	>90

**Tabell 3** Fiske vekt (g) and lengde (cm)

	fisk									
Vekt	10.87	4.3	8.06	3.1	4.71	5.41	4.4	5.01	3.2	6.08
Lengde	10.1	7	9.05	6.5	7.6	8.1	7.3	7.7	6.6	8.4

Gjennomsnittets vekt = 5.5 g, Gjennomsnittets lengde = 7.8 cm



Norsk Institutt for  
Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

*Salmo trutta*

NIVA metode K15



**Teststoff:** Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =2 (acetat)  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B638/3  
**Motatt:** 17.04.09

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modifisert Norsk Standard, NS 4717; "Bestemmelse av kjemiske produkters og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskevekt/vannvolum var (1.2 g/l) og er altså litt utenfor den foreslåtte fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203. Da testen skulle utføres som en statisk test og man antok at avløpsvannet hadde høyt innhold av nedbrytbart organisk material ble det benyttet lufting av mediet under forsøket.

## Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 5.5 g og middellengde 7.8 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen. Mortalitet hos fisk i en periode på 7 dager før teststart var <1 %. Testen ble utført ved 5 konsentrasjoner 10, 18, 32, 42 100 % av avløpsvannet. Lufting ble benyttet i alle testløsninger.

## Test detaljer

Test organisme:	Bekkeørret ( <i>Salmo trutta</i> )
Test parameter:	Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk:	Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk:	Fisk ankom Solbergstrand 14 April 2009
Dato for oppstart:	20 April 2009
Test konsentrasjoner:	10, 18, 32, 42 og 100 % avløpsvann
Tillagning av løsninger:	Test utløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann på Solbergstrand.
Test Medium:	Brønnvann ubehandlet
Test system:	80 l glass akvarier fylt med 50 l testløsning

## Test betingelser

Lys:	16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur:	Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 12.0 °C og minimum var 11,5 °C.
pH:	Målt ved start og slutt. Høyeste test konsentrasjon start 7.8 slutt 8,4. Kontroll hadde start 7.2 og slutt 8.1
Oksygen:	Målt til å være >90 % fordi alle kar ble luftet kontinuerlig.
Beregning av LC50	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC	Høyeste konsentrasjon uten toksiske effekter.



## Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 50 l testvann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 10, 18, 32, 56 og 100 % av avløpsvannet. Det var mye partikler i vannet. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann til ønsket konsentrasjon. Forsøket pågikk i 4 døgn. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen under forsøkene var 11,5-12,0 °C.

## Resultater

I tabell 1 er oppført dødeligheten i hver konsentrasjon av avløpsvann. Dødelighet ble observert i testløsninger ned til 32 %. Det ble ikke observert død fisk eller toksiske symptomer ved 18 % eller lavere. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter og var i denne testen 18 %. LC50 er 42 % i denne testen. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 2. Alle målte data er gjengitt i appendix.

### Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokollen.

Tabell 1. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =2". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
Kontroll	0	0	0	0
10	0	0	0	0
18	0	0	0	0
32	0	1 (14 %)	1 (14%)	1 (14 %)
42	0	3 (43 %)	4 (57 %)	4 (57 %)
100	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
LC50	65 %	42 %	42 %	42%
NOEC	42 %	18 %	18 %	18 %

## Konklusjon

Testresultatene for " Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =2" er summert opp i tabell 2.

Tabell 2. Sammendrag av resultater for toksisitetstest med " Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =2" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	65 %	42 %	42 %	42%
NOEC (%)	42 %	18 %	18 %	18 %

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

## Appendix

Tabell 1. Tillaging av testløsninger (50 liter).

Date	Test konsentrasjon %				
	10	18	32	42	100
	Liter avløpsvann				
20.04.09	5	9	16	21	50

Table 2. Oksygen og pH..

Date	Test Løsning %	pH start	pH Slutt 96 timer	Oksygen metning % 96 timer
20.04.09	K	7.22	8.07	9,2
20.04.09	10	7.1	7.96	9,2
20.04.09	18	7.11	7.91	9,2
20.04.09	32	7.1	7.82	9,2
20.04.09	56	7.11	7.88	9,2
20.04.09	100	7.07	7.7	9,2

Tabell 3 Fiske vekt (g) and lengde (cm)

	fisk									
Vekt	10.3	8.9	7.4	7.6	7.8	8.2	9	8.3	8.7	8.2
Lengde	11.32	7.3	5.45	4.7	5.11	5.81	7.53	6.74	7.11	5.73

Gjennomsnittets vekt = 5.5 g, Gjennomsnittets lengde = 6.7 cm



Norsk Institutt  
for  
Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - juvenil  
Piggvar  
(Semistatisk eksponering)  
*Scophthalmus maximus*



**Teststoff:** Fra Pharma pH=12  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B640/1  
**motatt:** 15.05.09

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med utkastet til PARCOM toksistets test slik det er beskrevet av Phil McWilliams, TERRA Environmental Laboratory A/S 1994 i "Draft procedure, Acute test with juvenile turbot *Scophthalmus maximus*", testen bygger på "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test).

## Testorganisme

Juvenile Piggvar (*Scophthalmus maximus*), med middelvekt 11.0 g og middel lengde 8.4 cm. Fisken var hentet fra Maximus AS i Danmark.

## TEST BETINGELSER

Test metode:	Draft PARCOM test Akutt test på juvenile piggvar
Test organisme:	Piggvar <i>Scophthalmus maximus</i>
Test parameter:	Mortalitet observert hvert døgn i 4 døgn.
Opprinnelse av fisk:	Maximus AS, Piggvar klekket i uke 40
Ankomst Solbergstrand:	Piggvar ankom Solbergstrand November 2008
Start dato:	20 April 2009
Test konsentrasjoner:	
Tillagning av testløsninger	Avløpsvannet ble fortynnet med 60m vann fra Drøbak ved hjelp av måleylindre og målekolber. Testløsningsvolumet var 25l.
Test medium:	60 m sjøvann fra Drøbak
Test beholdere:	80 l glass akvarium plassert i et gjennomstrømnings vannbad
Test betingelser	
Lys:	12h lys : 12 h mørke med dagslys type lysstoffrør
Temperatur:	Målt daglig med termometer, høyeste tempratur var 15.8 °C og laveste tempratur var 15.1 °C.
pH:	kontroll: start: pH 6,9 slutt: pH 7,7, høyeste konsentrasjon: start: pH 8,2 slutt: pH 7.6
Oksygen:	På grunn av høyt innhold av organisk stoff ble det antatt at potensiale for høyt oksygenforbruk var stort. Alle kar ble derfor luftet. Det ble målt >60% metning i alle kar under hele forsøket.
Salinitet i kontroll:	i kontroll: 16,9 PSU, i høyeste konsentrasjon: 30 PSU
Beregning av LC <sub>50</sub> *	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot log konsentrasjon på log papir. LC50 beregnes grafisk eller statistisk med Probit metoden når mulig.
Beregning av NOEC **	t-test (p<0.05)

\*LC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% dødelighet av testorganismen

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

### Test materiale

Avløpsvannet fra Pharma med pH=12 ble levert i 2 x 25 l plastkanner. Prøvematerielet ble oppbevart ved 14 °C inntil bruk. Avløpsvannet hadde en pH på 12. og måtte nøytraliseres med HCl før bruk. Dette medfører dannelse av salt, derfor ble det benyttet piggvar i testen istedet for ørret som var planen. Aktuelle testkonsentrasjoner ble laget før pH justering dette medfører en fortykning av prøven på ca 20 %.

### Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 50 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon. Konsentrasjoner testet var 9 konsentrasjoner 0,56, 1,0, 1,8, 3,2, 5,6, 10, 18, 32 og 56 % løsning av avløpsvann i sjøvann. Forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen ved forsøksslutt var >60 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen ble målt hver dag med termometer. Jevn temperatur ble sikret ved at akvariene sto i et klimarom med temperatur på 14 °C.

### Resultater

I tabell 1 er dødeligheten oppført for hver konsentrasjon av avløpsvannet. Som det fremgår av tabellen så ble det ikke observert dødelighet ved noen test konsentrasjon.

### Avvik fra protokoll

Ingen

Tabell 1. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Fra Pharma pH=12". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
0,56	0	0	0	0
1,0	0	0	0	0
1,8	0	0	0	0
3,2	0	0	0	0
5,6	0	0	0	0
10	0	0	0	0
32	0	0	0	0
56	0	0	0	0
LC50 %	>56	>56	>56	>56
NOEC %	>56	>56	>56	>56

## Konklusjon

Testresultatene er summert i tabell 2. Det ble ikke observert dødelighet i testen. Høyeste test konsentrasjon var 56 %. Uten dødelighet > 50 % ved noen test konsentrasjon er det ikke mulig å beregne en LC50 etter 96 timer. NOEC med hensyn på dødelighet etter 96 timer er  $\geq 56$  %.

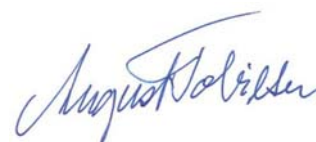
Tabell 2. Testresultater med " **Fra Pharma pH=12**" etter 96 timer.

Test parameter	Benevnelse	LC50	NOEC*
Mortalitet	%	>56	>56

\*med hensyn til mortalitet

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

## Appendix

**Tabell 1.** Tillaging av testløsninger. Testløsninger ble laget som beskrevet nedenfor. Deretter så ble pH i testløsningene justert til ca pH=8 ved hjelp av HCl.

Dato	Test konsentrasjon								
	%								
	0,56	1,0	1,8	3,2	5,6	10	18	32	56
	Liter avløpsvann								
25.05.09	0,26	0,5	0,9	1,6	2,8	5	9	16	28

**Tabell 2.** Oksygen og pH.

Date	Test Løsning %	Salholdighet PSU	pH	Oksygen metning %	Temperatur °C
25.05.09	K	16.8	6.88	8.95	15
25.05.09	0,56	17	8.31	7.88	15
25.05.09	1,0	17.4	8.38	6.2	15.1
25.05.09	1,8	16.9	8.17	7.84	15.1
25.05.09	3,2	17.7	8.32	8.47	15
25.05.09	5,6	18.5	8.32	8.4	15
25.05.09	10	19.9	8.29	8.7	15.2
25.05.09	18	22.1	8.33	8.38	15.3
25.05.09	32	22.7	8.2	9.13	15.4
25.05.09	56	30.1	8.22	8.72	15.5
29.05.09	K	16.9	7.72	8.16	14.4
29.05.09	0,56	17.1	7.9	7.59	14.4
29.05.09	1,0	17.5	7.85	6.47	14.4
29.05.09	1,8	16.9	7.89	6.58	14.5
29.05.09	3,2	17.8	7.57	5.8	14.2
29.05.09	5,6	18.6	7.61	5.76	14.2
29.05.09	10	20	7.69	5.72	14.2
29.05.09	18	22.2	7.72	5.99	14.3
29.05.09	32	22.8	7.62	5.51	14.4
29.05.09	56	30.3	7.63	4.91	14.6

**Tabell 3** Fiske vekt (g) and lengde (cm)

	fisk									
Vekt	4.86	2.68	5.06	8.14	4.52	8.54	3.96	4.77	4.79	5.07
Lengde	6.6	5.3	6.8	8.3	5.5	8.3	6.2	6.6	6.4	6.7

Gjennomsnittets vekt = 5,2 g, Gjennomsnittets lengde = 6,7 cm



Norsk Institutt for  
Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

*Salmo trutta*

NIVA metode K15



**Teststoff:** Fra Blekeri + Tørkemaskin pH 4 (derivat)  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B640/2  
**Motatt:** 11.05.09

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modifisert Norsk Standard, NS 4717; "Bestemmelse av kjemiske produkters og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskevekt/vannvolum var (1.1 g/l) og er altså litt utenfor den foreslåtte fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203. Da testen skulle utføres som en statisk test og man antok at avløpsvannet hadde høyt innhold av nedbrytbart organisk material ble det benyttet lufting av mediet under forsøket.

## Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 8.1 g og middellengde 6.8 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen. Mortalitet hos fisk i en periode på 7 dager før teststart var <1 %. Testen ble utført ved 5 konsentrasjoner 1, 3.2, 10, 32 og 100 % av avløpsvannet. Lufting ble benyttet i alle testløsninger.

## Test detaljer

Test organisme:	Bekkeørret ( <i>Salmo trutta</i> )
Test parameter:	Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk:	Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk:	Fisk ankom Solbergstrand 14 April 2009
Dato for oppstart:	20 April 2009
Test konsentrasjoner:	1, 3.2, 10, 32 og 100 % avløpsvann
Tillagning av løsninger:	Test utløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann på Solbergstrand.
Test Medium:	Brønnvann ubehandlet
Test system:	80 l glass akvarier fylt med 50 l testløsning

## Test betingelser

Lys:	16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur:	Målt daglig i alle akvarier. Maksimum temperatur var 14.7 °C og minimum var 11.5 °C.
pH:	Målt ved start og slutt. Høyeste test konsentrasjon start 6.9 slutt 7.0. Kontroll hadde start 8.1 og slutt 8.2
Oksygen:	Oksygenmetning målt til å være >90 % fordi alle kar ble luftet kontinuerlig.
Beregning av LC50	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC	Høyeste konsentrasjon uten toksiske effekter.

## Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 50 l testvann og 7 fisk i hver konsentrasjon av utløpsvann. Konsentrasjoner testet var 1, 3,2, 10, 32 og 100 % av avløpsvannet. Det var mye partikler i vannet. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet med brønnvann til ønsket konsentrasjon. Forsøket pågikk i 4 døgn. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen under forsøkene var 11,5-12,0 °C.

## Resultater

I tabell 1 er oppført dødeligheten i hver konsentrasjon av utløpsvann. Dødelighet ble observert i testløsninger ned til 10 %. Det ble ikke observert død fisk eller toksiske symptomer ved 3,2 % eller lavere. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter og var i denne testen 3,2 %. LC50 er 5,7 % i denne testen. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 2. Alle målte data er gjengitt i appendix.

### Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokollen.

Tabell 1. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =2". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
Kontroll	0	0	0	0
1	0	0	0	0
3,2	0	0	0	0
10	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
32	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
100	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
LC50	5,7 %	5,7 %	5,7 %	5,7 %
NOEC	3,2 %	3,2 %	3,2 %	3,2 %



**Konklusjon**

Testresultatene for " Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =4" er summert opp i tabell 2.

Tabell 2. Sammendrag av resultater for toksisitets test med " Fra Blekeri + Tørkemaskin pH =4" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	5,7 %	5,7 %	5,7 %	5,7 %
NOEC (%)	3,2 %	3,2 %	3,2 %	3,2 %

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

## Appendix

**Tabell 1.** Preparation of test concentration with:

Date	Test konsentrasjon				
	%				
	1	3,2	10	32	100
	Liter avløpsvann				
11.05.09	0,5	1,6	5	16	50

**Table 2.** Oksygen og pH. Oxygen was measured before renewal and at the end of the test.

Date	Test Løsning %	Temp	pH	Oksygen metning % 24 timer
11.05.09	K	11.3	8.12	
11.05.09	1	11.5	7.92	
11.05.09	3,2	11.5	7.58	
11.05.09	10	11.6	6.94	
11.05.09	32	13.6	5.17	
11.05.09	100	20.3	6.9	
12.05.09	K	13.8	8.11	8.61
12.05.09	1	13.7	8.13	9.01
12.05.09	3,2	13.8	8.03	8.7
12.05.09	10	14	7.9	9.28
12.05.09	32	14.4	7.3	8.4
12.05.09	100	14.7	7	8.05
13.05.09	K	14.5	8.11	8.01
13.05.09	1	14.6	8.13	7.78
13.05.09	3,2	14.6	8.03	8.81
14.05.09	K	14.5	8.43	8.32
14.05.09	1	14.6	8.38	8.71
14.05.09	3,2	14.3	8.35	8.53
15.05.09	K	13.6	8.23	8.81
15.05.09	1	13.6	8.26	8.85
15.05.09	3,2	13.7	8.27	8.73

**Tabell 3** Fiske vekt (g) and lengde (cm)

	fisk									
Vekt	6.71	8.92	7.4	7.61	7.8	8.2	9.21	8.3	8.77	8.2
Lengde	8.1	7.3	5.4	4.7	5.1	8	8.7	6.8	8.3	5.6

Gjennomsnittets vekt = 8,1 g, Gjennomsnittets lengde = 6.8 cm